



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO**



FACULTAD DE CIENCIAS

**CUANTIFICACIÓN DE MANITOL COMO NUTRIMENTO DE HONGOS
COMESTIBLES SILVESTRES DESHIDRATADOS**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:

ARIANA DE LA CRUZ HERNÁNDEZ

DIRIGIDA POR:

DR. MOISÉS TEJOCOTE PÉREZ

DR. ALEJANDRO CARBAJAL SAUCEDO

Diciembre, 2016



Universidad Autónoma del Estado de México
UAEM

DR. JOSÉ GUADALUPE ANAYA ORTEGA
SUBDIRECTOR ACADÉMICO
P R E S E N T E

Nos permitimos informarle que hemos revisado el trabajo de tesis titulado:
“CUANTIFICACIÓN DE MANITOL COMO NUTRIMENTO DE HONGOS
COMESTIBLES SILVESTRES DESHIDRATADOS”, que presenta la Pas. de
Biól. Ariana De la Cruz Hernández. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto
aprobatorio.

ATENTAMENTE:

M. EN C. CLAUDIA LIZBETH MOCTEZUMA GONZÁLEZ

DR. DIDAC SANTOS FITA

DR. MOISÉS TEJOCOTE PÉREZ

DR. ALEJANDRO CARBAJAL SAUCEDO

AGRADECIMIENTOS PROFESIONALES

A mi asesor el Dr. Moisés Tejocote por los conocimientos compartido a lo largo de todos estos años enseñándome que en la ciencia no hay nada imposible, todo se puede comprobar, mejorar o innovar, la ciencia siempre avanza y hay que analizar todas las opciones y pensar en una solución. Finalmente agradezco la paciencia dedicada durante todo este proceso, así como el tiempo e ideas fundamentales para cada una de las fases de este proyecto.

Al Dr. Alejandro Carbajal por el compromiso siempre al máximo desde que comenzamos con este proyecto brindándome su apoyo y conocimientos, sobre todo por los consejos dados que me ayudaron a ampliar mi panorama científico y finalmente por la paciencia y tiempo dedicados.

A mis revisores Mtra. Claudia Moctezuma y Dr. Didac Santos por las sugerencias hechas que ayudaron a que este trabajo mejorara, compartiendo el conocimiento y experiencia que la ciencia les ha dado, además del valioso tiempo que dedicaron en este proyecto.

A todos los profesores que se han encargado de mi formación académica, quienes me han inculcado conocimientos de todo tipo y área que me han sido útiles siempre y que con cada idea se encargaron de formarme hasta lo que soy hoy.

A los comerciantes del tianguis de Temoaya quienes compartieron conmigo algunos de sus conocimientos tradicionales.

Al Comité Mexicano de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado para culminar con este proyecto.

Y finalmente agradezco a la persona que termino de despertar mi curiosidad científica Mtra. Denisse sin usted no habría descubierto el maravilloso mundo de la ciencia.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Infinitamente a Dios por haberme ayudado en cada uno de los pasos para culminar esta etapa y colocar a cada una de las personas que me han impulsado a lo largo de este camino.

A mi familia por ser el pilar de mi vida académica y personal, principalmente a mis padres quienes me han brindado su apoyo incondicional, por siempre alentarme a seguir adelante y no dejar que decaiga nunca, enseñándome que nada es demasiado grandioso ni demasiado insignificante, que debo valorar cada cosa, experiencia o persona que aparezca en mí camino, pues siempre hay algo bueno que aprender por muy bueno o muy malo que esto sea. A mi hermano por darme esas pequeñas ayudas que terminaron siendo parte fundamental de cosas realmente importantes.

A mis amigos y amigas cuyos nombres no menciono porque la lista sería en verdad larga, agradezco a quienes siempre confiaron en mí, a quienes siempre me aconsejaron a altas horas de la madrugada regalándome tiempo, sueño y conocimientos.

DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

An: Anillo

ANOVA: Análisis de Varianza

Bas: Basidio

Asc: Asca

Ctx: Contexto

Esp: Espora

Esc: escama

Est: Estípite

Etg: Esterigmas

Fib: fibúla

Hi: Hifa

Him: Himenio

HSC: Hongos Silvestres Comestibles

KOH: Hidróxido de Potasio

L: Lámina

LSD: Least Significant Sifference de Fisher
o Diferencia Mínima Significativa

Mic: Micelio

mg: miligramo

mg/g: miligramo por gramo

nm: nanómetro

PFNM: producto forestal no maderable

Pi: Píleo

Pr: Poro

Vol: Volva

μ: micras

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	12
INTRODUCCIÓN	13
ANTECEDENTES	15
I. Manitol.....	15
II. Importancia comestible de los hongos silvestres a nivel internacional.....	18
III. Importancia comestible de los hongos silvestres a nivel nacional.....	20
IV. Componentes de los hongos.....	22
V. Manitol en hongos	23
VI. Familias utilizadas	26
JUSTIFICACIÓN	33
HIPÓTESIS	34
OBJETIVOS	35
General.....	35
Particulares.....	35
MÉTODO	36
1. Zona de estudio	36
2. Recolección.....	38

3. Deshidratación e Identificación.....	39
4. Extracción y Cuantificación.....	40
5. Aplicación de pruebas estadísticas.....	41
RESULTADOS	42
DISCUSIÓN	65
CONCLUSIÓN	70
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXO I	84
ANEXO II	87

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Morfología de un carpóforo.....	14
Figura 2. Forma química del manitol	15
Figura 3. Absorbancia del manitol.....	16
Figura 4. Biosíntesis de manitol en hongos.....	17
Figura 5. Bosque de coníferas de San Pedro Arriba	34
Figura 6. Mapa de ubicación de San Pedro Arriba	
en el Estado de México	34
Figura 7. Encuesta	38
Figura 8. <i>Russula olivacea</i>	45
Figura 9. <i>Russula sanguinea</i>	46
Figura 10. <i>Russula brevipes</i>	46
Figura 11. <i>Lactarius scrobiculatus</i>	47
Figura 12. <i>Lactarius salmonicolor</i>	47
Figura 13. <i>Amanita</i> aff. <i>caesarea</i>	48
Figura 14. <i>Amanita rubescens</i>	48
Figura 15. <i>Agaricus campestris</i>	49

Figura 16. <i>Ramaria formosa</i>	49
Figura 17. <i>Gomphus floccosus</i>	50
Figura 18. <i>Boletus edulis</i>	50
Figura 19. <i>Cantharellus cibarius</i>	51
Figura 20. <i>Morchella</i> aff. <i>elata</i>	51
Figura 21. <i>Morchella conica</i>	52
Figura 22. <i>Lycoperdon perlatum</i>	52
Figura 23. <i>Clavariadelphus truncatus</i>	53
Figura 24. <i>Helvella crispa</i>	54
Figura 25. <i>Helvella lacunosa</i>	54
Figura 26. <i>Gyromitra infula</i>	55
Figura 27. <i>Clitocybe nebularis</i>	55
Figura 28. <i>Pleurotus ostreatus</i>	56
Figura 29. <i>Agaricus bisporus</i>	56
Figura 30. Curva de calibración.....	58
Figura 31. Comparación de manitol por familia.....	62
Figura 32. Gráfica de experimental vs bibliográfico.....	64
Figura 33. Comerciante de hongos.....	87
Figura 34. Especies de hongos silvestres <i>Amanita</i> , <i>Russula</i> y <i>Cantharellus</i>	87

Figura 35. Especies de hongos silvestres <i>Boletus</i> y <i>Clitocybe</i>	87
Figura 36. Deshidratación de hongos silvestres.....	88
Figura 37. Hongos deshidratados.....	88
Figura 38. Maceración de carpóforos.....	88
Figura 39. Pesado de muestras por cada especie.....	88
Figura 40. Digestión alcohólica.....	88
Figura 41. Lavados con éter etílico.....	89
Figura 42. Muestras diluidas con agua destilada 1:10.....	89
Figura 43. Lectura en espectrofotómetro UV-Visible.....	89

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Precio comercial del manitol Chroma Dex	18
Tabla 2. Variaciones en la concentración de manitol para especies comestibles recopiladas por Kalač (2016).....	24
Tabla 3. Concentraciones de manitol en diferentes presentaciones del carpóforo.....	26
Tabla 4. Frecuencia del porcentaje de demanda.....	42
Tabla 5. Absorbancia de curva de calibración.....	57
Tabla 6. Concentración de manitol por especie.....	59
Tabla 7. ANOVA para las concentraciones de manitol en cada especie.....	60
Tabla 8. Grupos homogéneos obtenidos de LSD.....	60
Tabla 9. Comparación entre resultados obtenidos y reportes previos.....	63
Tabla 10. Lectura bruta por especie	84

RESUMEN

Los hongos silvestres comestibles (HSC) son recursos naturales que tienen una gran demanda en los mercados a nivel nacional, formando parte importante de la dieta mexicana, proporcionan un gran número de nutrientes y propiedades, las cuales dependen de la composición química de cada especie, en este sentido los metabolitos juegan un papel importante como nutrimentos, tal es el caso del manitol, un poliol que regula el estrés oxidativo y en el humano actúa como vasodilatador renal débil, consumido por diabéticos y ampliamente usado después de cirugías cerebrales y en casos de hipertensión. En esta investigación se cuantificó la concentración de manitol en 20 especies de HSC procedentes de San Pedro Arriba en el municipio de Temoaya, Estado de México para cuantificar y comparar su concentración entre las especies de mayor consumo por la población local de esta zona y así conocer el potencial terapéutico que aporta este metabolito en los hongos comestibles que por tradición se consumen en esta localidad cada año en temporada de lluvias. Los resultados obtenidos muestran que la familia Russulaceae es la que posee mayores concentraciones de manitol, mientras que la Lycoperadaceae representada por *Lycoperdon perlatum* mostró los niveles más bajos de las especies silvestres, siendo la popularidad de este hongo mayor que la de *Russula olivacea* la especie que tiene la concentración más alta de manitol.

INTRODUCCIÓN

El manitol ($C_6H_{14}O_6$), se sintetiza en células bacterianas, vegetales y en células fúngicas mediante la reducción de dos vías: la manosa y la glucosa. En el caso de los hongos (Fig. 3), la glucosa pasa a fructosa 6-fosfato y de ahí se sintetiza el manitol mediante la defosforilación del manitol 1-fosfato y mediante la oxidación de la fructosa con NADPH. Farmacológicamente cumple con distintas funciones dependiendo de la presentación o derivado del producto comercial, puede ser considerado de varias formas, como droga terapéutica, antidepresivo, agente gastrointestinal, laxante, auxiliar en diagnóstico renal, diurético, antiglaucoma, entre otros. Comercialmente se pueden encontrar como Manitol (B. Braun Medical), manitol, Osmitol (Baxter Healthcare Corporation) y manitol (Hospira) y como genéricos Manitol (American Regent), manitol (Cardinal Health), manitol (Fresenius Kabi EE.UU.), inyectables y vacunas (KEEGG DRUG, 2016). Los hongos como organismos heterótrofos que se alimentan por absorción y secretan enzimas que degradan la materia orgánica en los ecosistemas (Alexopolus *et al.*, 1996; Herrera y Ulloa, 1998; Webster y Weber, 2007), poseen una amplia variedad de morfologías (Fig. 1), colores, texturas, olores y consistencias, reflejadas en su anatomía por la diversidad de sustratos y ambientes que invaden (Alexopoulos *et al.*, 1996; Valenzuela *et al.*, 2006; Cepero de García *et al.*, 2012). Entre sus usos más importantes esta su uso en la fermentación de alimentos y la creación de medicamentos como los antibióticos (Hanson, 2008).

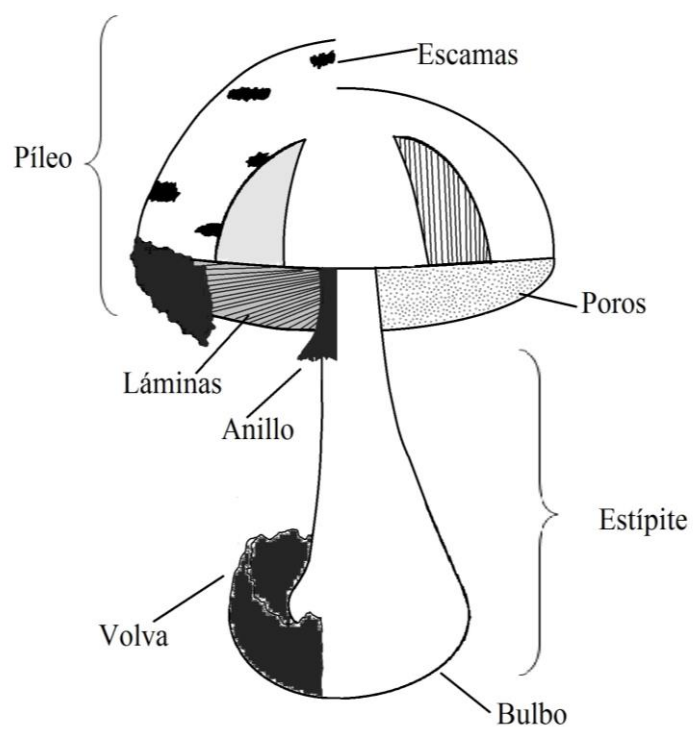


Figura 1. Morfología de un carpóforo

ANTECEDENTES

I. Manitol

El manitol (Fig. 2) cuenta con un peso molecular 182.1718 (KEGG DRUG, 2016), es un alcohol que surge a partir de la reducción de la manosa, considerado como uno de los metabolitos más abundantes dentro de la naturaleza, puesto que está presente en muchos organismos (Lewis y Smith, 1967; Stoop, *et al.*, 1996). Es conocido como D-Mannitol, azúcar de maná, 1,2,3,4,5,6-Hexanehexol, Isotol, Manicol y Maniton S (Wishart *et al.*, 2007; 2009; 2013).

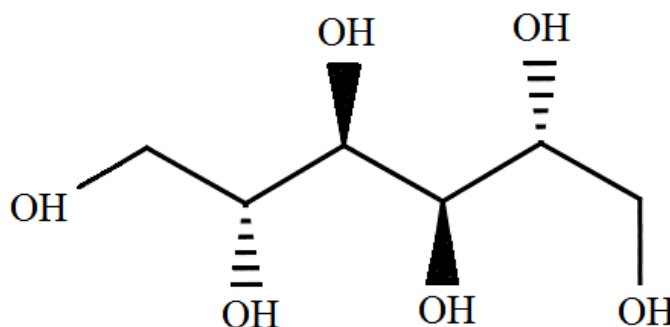


Figura 2. Forma química del manitol

Existen kits comerciales para la detección colorimétrica de manitol, los cuales están basados en la reacción producida por el D manitol + NAD al reaccionar con la enzima Manitol deshidrogenasa originando D-Fructosa + NADH, lo que produce una coloración anaranjada que se lee a una absorbancia de 450 nm (Abcam discover more, 2013; SIGMA-ALADRIC, 2015) (Fig. 3).

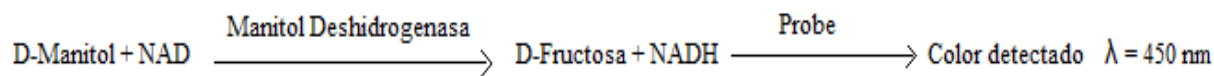


Figura 3. Absorbancia del manitol (Abcam discover more, 2013; SIGMA-ALDRICH, 2015).

Es considerado como nutrimento puesto que funciona como precursor metabólico participando en diversas rutas bioquímicas que pueden proveer energía a una célula (Nordström, 2006; Crockford *et al.* 2008). Las investigaciones sobre la biosíntesis de este metabolito fueron hechas inicialmente en plantas y bacterias, modificándose para hongos primero en *Alternaria alternata* y finalmente en macromicetos, describiéndose dos rutas (Fig. 4), la primera en *Agaricus bisporus* y *Lentinula edodes*, en donde la fructosa sufre una reducción a manitol a través de las manitol deshidrogenasa (Morton *et al.*, 1885; Kulkarni, 1990), mientras que en la segunda se describió en Deuteromycetes, aquí la síntesis del manitol se lleva a cabo gracias a la glucolisis donde la fructosa-6-fosfato se convierte en manitol-1-fosfato mediante la intervención de la manitol-1-fosfato deshidrogenasa que sufre una desfosforilación. En Ascomycetes como *Gibberella*, *Ceratocystis* y *Neurospora* debido a que carecen de manitol 1-fosfato deshidrogenasa este ciclo se lleva a cabo mediante dos rutas, la oxidación de NADH y la reducción de NADP⁺ (Hult *et al.*, 1980).

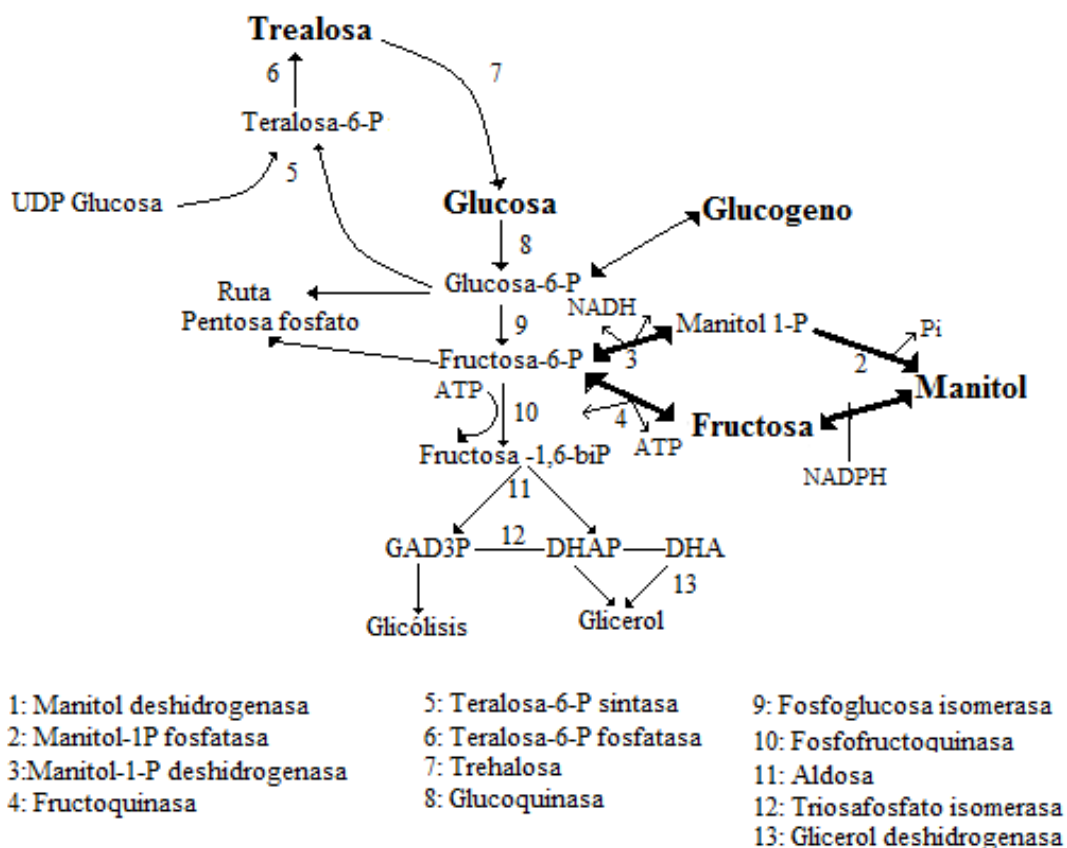


Figura 4. Biosíntesis de manitol en hongos filamentosos llevada cabo por dos vías: la primera consiste en la reducción de fructosa 6-fosfato en manitol 1-fosfato, desfosforilandose gracias a la enzima manitol-1-fosfato, y en la segunda Fructosa 6-fosfato gracias a la fructoquinasa se transforma en fructosa y con NADPH llega a manitol (Hult *et al.*, 1978; Hult *et al.*, 1980).

Como ya se mencionó, se encuentra presente en varios grupos de seres vivos como bacterias (Abcam discover more, 2013; SIGMA-ALADRIC, 2015) y plantas, donde se ha detectado un nivel considerable en la mayoría de los miembros de la familia Oleaceae (Oddo *et al.*, 2002). En humanos no es sintetizado, pero su administración le trae beneficios a la salud, como elevar la osmolaridad del plasma sanguíneo aumentando el flujo del agua en cerebro, líquido ceforraquídeo y líquido intersticial; es un eficaz diurético en la

insuficiencia renal irreversible inhibiendo la reabsorción de sodio, cloruro y otros solutos y eliminado mediante la orina sustancias tóxicas evitando la nefrotoxicidad. También es utilizado como antiglaucoma al aumentar el flujo de plasma y reducir la presión intraocular (DrugBank, 2016). Actúa en contra de la malaria cerebral en niños cuando es combinado con quinina (Okoromach *et al.*, 2011). Pero su principal uso y el más conocido es como edulcorante en alimentos para diabéticos (Panchal *et al.*, 2014). Gracias a estos beneficios se puede encontrar de manera comercial en diferentes dosis (Tabla 1), pero resulta inaccesible para cierta parte de la población.

Tabla 1. Valores comerciales de las distintas presentaciones de manitol (ChromaDex, 2016).

Contenido neto	Precio
10 g	\$ 236.55
1 g	\$ 1162.20
250 mg	\$ 699.38

II. Importancia comestible de los hongos silvestres a nivel internacional

Los hongos han sido estudiados en diversas partes del mundo siendo clasificados por las numerosas morfologías de los cuerpos fructíferos, y han sido utilizados en distintos campos de la ciencia como la bioquímica y la genética (Ruíz, 2001). Se tiene estimado que a nivel mundial existen aproximadamente 1.5 millones de especies fúngicas, de las cuales se conocen cerca de 80 000-120 000 (Hawkswort, 2001; Kirk *et al.*, 2001).

A nivel internacional los hongos son un producto forestal no maderable (PFNM) de suma importancia para muchas poblaciones, donde son comercializados en los mercados locales e incluso exportados en más de 80 países donde la recolección y consumo puede ser extensivo o intensivo. Para los países en desarrollo son muy importantes sobre todo en las comunidades rurales, y en casos como los de África pueden llegar a ser el principal alimento de temporada por la escasez de comida. Los países ubicados hacia el sur, son los más beneficiados económicamente por los hongos comestibles silvestres. El consumo de especies en todo el mundo no es la misma, pero con movimientos migratorios existe cierta modificación en la tradición por el consumo de hongos de algunas personas, aunque debido a confusiones han existido casos de intoxicaciones por consumir la especie equivocada. Los HSC son un alimento estacional de la temporada de lluvias, que para ser utilizados a lo largo del año requieren de técnicas de almacenamiento, y estas suelen variar no sólo por especie, sino por región, siendo la técnica más común la deshidratación, en China se preservan en salmuera y en Malawi después de ser secados se colocan en hojas de *Uapaca kirkiana* (FAO, 2015).

En la etnomicología se reconocen dos tipos de sociedades, micofílicas, las cuales poseen un amplio conocimiento sobre el uso y beneficio de los hongos, siendo para ellos muy apreciados y las micofóbicas, quienes tienen desconfianza y nulo aprecio por este recurso (Wasson y Wasson, 1957).

Durante los últimos años los países en los cuales se han llevado a cabo la mayor parte de los estudios sobre el conocimiento tradicional de los hongos son España (Agelet y Vallés, 2003), Nepal (Christensen *et al.*, 2008), Tanzania (Tibihwa, 2012) y México (Jarvis *et al.*,

2004); donde los hongos silvestres comestibles tienen una gran importancia dietética en las comunidades rurales, con una elevada derrama económica local sin dejar de lado su gran valor cultural y nutrimental, llevándose a cabo prácticas de preservación y comercialización para su manejo (Zamora-Martínez y Nieto de Pascual, 1995 y Martínez-Carrera *et al.*, 2007).

III.Importancia comestible de los hongos silvestres a nivel nacional

El conocimiento tradicional de los hongos en México se originó en la época Precolombina; y sobrevive hasta la actualidad gracias a los grupos étnicos quienes utilizan aproximadamente 2000 variedades de hongos silvestres (Mariaca *et al.*, 2000; Ruan-Soto *et al.*, 2004; Ruan-Soto *et al.*, 2009). Gracias a la etnomicología conocemos la interacción entre humanos y hongos, desde la antigüedad, sobreviviendo como testigos figuras de piedra, códigos y crónicas provenientes de la época prehispánica en distintas poblaciones de México (Ruan-Soto y Ordaz-Velázquez, 2015).

La importancia de los hongos y el valor de este recurso depende del uso dado por los habitantes de cada sitio, en la mayoría de las regiones templadas de nuestro país forman una parte importante de la alimentación (Montoya *et al.*, 2003; Garibay-Orijel *et al.*, 2006), pero existen zonas como Ejido Playón de la Gloria y Lancajá-Chansayab, comunidades de Chiapas donde no son esenciales para la dieta, pero el conocimiento de este recurso es similar al de otras regiones del país, por ejemplo uso medicinal, lúdico, alucinógeno y venenosos (Ruan-Soto *et al.*, 2009).

Los distintos usos y propiedades de los hongos, hace que exista el interés experimental en diferentes áreas como la biotecnología, aunado a esto la gran riqueza y diversidad

micológica del país, de la cual se estiman más de 200,000 especies, teniéndose identificadas sólo el 4% (Herrera y Guzmán, 1961; Guzmán, 1998), de las cuales 371 especies se consideran comestibles (Garibay-Orijel *et al.*, 2006; Garibay y Ruan, 2014), siendo muy apreciados por la población mexicana y nutricionalmente más valiosos que muchos vegetales (Guzmán 1984; Motoya *et al.*, 2000; 2004), atribuyéndoseles propiedades medicinales (Guzmán, 1994) y siendo altamente valoradas en el comercio local (Villarreal y Gómez, 1997; Martínez-Carrera *et al.*, 1998; Mariaca *et al.*, 2000). Los hongos silvestres son considerados dentro de la dieta humana y de otros animales como alimento complementario, cuya demanda se ha incrementado en los últimos años (Guillén y Baeza, 2014), aumentando también el interés por incluíros en la dieta (Balasundram *et al.*, 2006) por sus beneficios como antialérgicos, cardioprotectores, antiinflamatorios, antimicrobianos, y antioxidantes, considerándoseles como objetos experimentales para el tratamiento contra el cáncer (Gutiérrez *et al.*, 2000; Middleton *et al.*, 2000; Puupponen-Pimiä *et al.*, 2001; Manach *et al.*, 2005).

En el Estado de México hay un registro de 65 especies de hongos silvestres comestibles. El Valle de México es la zona de mayor consumo, donde durante periodo junio-diciembre, las familias ingieren hongos dos o más veces por semana, comercializando parte de la recolecta en los tianguis más cercanos. Los principales mercados se encuentran en Toluca, Santiago Tinguistenco, Tenango del Valle, Lerma, Ocoyoacac, Ixtlahuaca, Jocotitlan, Atlacomulco, Jilotepec y El Oro (Mariaca *et al.*, 2000). En ese sentido, el municipio de Temoaya y la localidad de San Pedro Arriba, son una etno-región de alto consumo hongos silvestres gracias a sus amplios conocimientos sobre identificación y gastronomía.

IV. Componentes de los hongos

A los hongos se les atribuyen distintas propiedades nutricionales, estas dependen de la presencia y concentración de distintas biomoléculas destacando principalmente proteínas y carbohidratos, (Lindequist *et al.*, 2005; Poucheret, 2006; Kalač, 2009;). Han sido utilizados como medicamentos, al poseer una gran cantidad de moléculas bioactivas que restauran la salud actuando como antimicrobianos, antioxidantes, entre otras, algunas de estas moléculas son, vitaminas, ácidos orgánicos, polifenoles, minerales, polisacáridos, metabolitos secundarios y otros componentes que podrían ser empleados en contra de enfermedades neurodegenerativas y crónicas (Ruiz, 2001; Zhang *et al.*, 2016).

La mayor parte de un hongo está compuesto por agua, representando del 80-94% por cada 100 g de su peso en fresco (Mattila *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2012; Lau *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2016), y el resto está compuesto principalmente por proteínas, carbohidratos, aminoácidos y metabolitos, además de una serie de micronutrientes relacionada directamente con la composición química del sustrato, por ejemplo en una recolección de cinco especies provenientes de diferentes provincias de China donde el suelo tenía metales pesados y se encontraron altas concentraciones de K, Zn, Na, Mg, Cu Pb, y As que superaban a los niveles encontrados en el sustrato, y un ligeramente preocupante Cd, en cuanto a la cantidad de proteínas en bruto, esta iba de los 21.72 a 30.59 g/100 g de peso seco, carbohidratos de 49.18-62.58 g y la cantidad de grasas 1.96-7.87 g. Además se menciona que la mejor forma de obtener los nutrientes de un hongo es en forma deshidratada (Liu *et al.*, 2016).

La composición química de un hongo además de otorgarle propiedades nutrimentales, es la encargada de conferirle sabor, siendo los aminoácidos las moléculas que más influyen en esta característica, por ejemplo el glutamato que otorga un sabor agradable a los carpóforos o la glicina que se encarga de darles un sabor dulce (Beluhan *et al.*, 2011).

V. Manitol en hongos

El manitol es un metabolito presente en hongos, posee amplias propiedades terapéuticas siendo precursor de rutas bioquímicas celulares (Manzi *et al.*, 2001; Ouzouni *et al.*, 2009), y a pesar de que no existen estudios profundos al respecto, se sabe que este poliol está ligado a algunas reacciones oxidativas (Patel y Williamson, 2016), cumple con funciones de tolerancia al estrés y almacenamiento de energía (Hult *et al.*, 1980), en el caso de *Agaricus bisporus* actúa como reserva de carbono acumulado (Feofilova *et al.*, 2004), para *Stagonospora nodorum* es esencial en la formación de sus carpóforos (Solomon *et al.*, 2007), en *Aspergillus niger* funge como protector de esporas en condiciones adversas como el estrés oxidativo, frío, sequía (Ruijter *et al.*, 2003) y en cuanto a hongos micorrícicos permite la asimilación de carbohidratos de origen vegetal (Martin *et al.*, 1998; Ceccaroli *et al.*, 2003).

Las investigaciones realizadas en hongos respecto al manitol, se han realizado en varios grupos, deuteromicetos, ascomycetos y basidiomicetos, desconociéndose la concentración de este poliol en la mayoría. En el caso de los basidiomicetos la mayoría de los análisis se han realizado en hongos comestibles (Solomon *et al.*, 2007), descubriéndose que es un potente terapéutico para prevenir o actuar en contra de la hipertensión puesto que actúa en

contra de cierta parte de mecanismos de ACE realizándose cuando se ingieren hongos (Yahaya *et al.*, 2014).

Entre los estudios realizados por cromatografía de gas-líquido (GLC), para la concentración de manitol, se encuentran los de Tan y Moor (1994) para hongos de importancia farmacéutica y especies comestibles, como *Lentinula edodes* (micelio, píleo y estípite inmaduros), *Coprinus cinereus* (píleo) y *Agaricus bisporus* (píleo), donde la concentración más baja se encuentra en micelio y es de menos de 50 mg/L, mientras que la más alta es la que se encuentra en píleo de *Agaricus bisporus*, y para *Coprinus cinereus* no se registraron niveles del mismo.

Kalač (2006) recopiló datos sobre los principales nutrimentos de hongos, sobre todo la cantidad de monosacáridos, oligosacáridos y manitol contenidos en tejido seco de diferentes especies europeas, con lo que llegó a la conclusión de que aproximadamente hay entre 5 y 25 g/100 g de manitol en tejido seco, consideradas como cantidades relativamente bajas. Además en este trabajo se observa que las concentraciones de manitol varían no solo entre géneros, sino que además existe una variación entre lo reportado por los análisis de diferentes autores para la misma especie (Tabla 2).

Tabla 2. Variaciones en la concentración de manitol para especies comestibles recopiladas por Kalač (2016).

Especie	Concentración de Manitol (g /100g peso seco)	Referencia
<i>Agaricus albertii</i>	4.78	Reis <i>et al.</i> , 2014a
<i>Agaricus arvensis</i>	6.5	Barros <i>et al.</i> , 2007a
<i>Agaricus campestris</i>	16.9	Pereira <i>et al.</i> , 2012
	5.59	Glamočlija <i>et al.</i> , 2015
<i>Amanita cesarea</i>	0.30	Fernandes <i>et al.</i> , 2015c
<i>Amanita curtipes</i>	3.9	Fernandes <i>et al.</i> , 2015c
<i>Boletus edulis</i>	3.46	Barros <i>et al.</i> , 2008b
	2.45	Heleno <i>et al.</i> , 2011
	1.13	Fernandes <i>et al.</i> , 2013b
	0.15	Fernandes <i>et al.</i> , 2014b
<i>Cantarellus cibarius</i>	13.9	Barros <i>et al.</i> , 2008a
	8.33	Barros <i>et al.</i> , 2008b
<i>Clitocybe odora</i>	0.59	Vaz <i>et al.</i> , 2011
<i>Lactarius deliciosus</i>	13.7	Barros <i>et al.</i> , 2007a
<i>Licoperdon perlatum</i>	0.02	Barros <i>et al.</i> , 2008a
<i>Morchella esculenta</i>	11.5	Heleno <i>et al.</i> , 2013
	1.08	Heleno <i>et al.</i> , 2013
<i>Ramaria botrytis</i>	11.7	Barros <i>et al.</i> , 2008a
<i>Russula olivacea</i>	15.3	Grangeia <i>et al.</i> , 2011
<i>Russula cyanoxantha</i>	16.2	Grangeia <i>et al.</i> , 2011
<i>Agaricus bisporus</i>	5.6	Reis <i>et al.</i> , 2012
<i>Coprinus comatus</i>	1.41	Stojković <i>et al.</i> , 2013
	8.39	Li W <i>et al.</i> , 2014
	0.40	Vaz <i>et al.</i> , 2001
	1.84	Stojković <i>et al.</i> , 2013

<i>Lentinula edodes</i>	8.38	Yang <i>et al.</i> , 2001
	10.0	Reis <i>et al.</i> , 2012
	56.7	Chen <i>et al.</i> , 2015
	43.4	Chen <i>et al.</i> , 2015
	23.3	Carneiro <i>et al.</i> , 2013
<i>Pleurotus ostreatus</i>	0.36	Yang <i>et al.</i> , 2001
	No reportado	Kim <i>et al.</i> , 2009
	0.54	Reis <i>et al.</i> , 2012
	0.87	Obodai <i>et al.</i> , 2014

Kalač (2006) considera que existen dos razones por las cuales es importante analizar las concentraciones de manitol, la primera es la región geográfica puesto que de una zona a otra las características de una especie pueden variar y la segunda se refiere a los métodos utilizados para ingerir y almacenar hongos silvestres.

En cuanto a los métodos de preservación según Barros *et al.* (2007) considera la deshidratación como la técnicas más viable para mantener las propiedades nutrimentales de los hongos silvestres comestibles (Tabla 3).

Tabla 3. Concentraciones de manitol en diferentes presentaciones del carpóforo (g/100 g peso seco) (Barros *et al.*, 2012).

Especie	Seco	Congelado	Cocinado
<i>Lactarius deliciosus</i>	15.4	13.9	10.2
<i>Macrolepiota mastoidea</i>	7.8	4.6	7.5
<i>Macrolepiota procera</i>	4.7	6.5	2.3
<i>Sarcodon imbricatus</i>	19.6	25.3	11.8

VI. Familias utilizadas

Agaricaceae

Contiene al grupo de laminados más importante de hongos comestibles incluyendo tanto a silvestres como cultivados, debiendo su importancia a su valor gastronómico y económico. Su género más representativo es *Agaricus* el cual se identifica por poseer un estípite con anillo, carecen de volva, sus láminas son rosa pálido en etapa joven y al madurar se liberan volviéndose color marrón, esporada de coloración marrón clara u oscuro. Se le puede considerar como un grupo seguro sin embargo contiene a varias especies tóxicas y la mala identificación ha llevado a desafortunados malestares por intoxicación, pero incluso en especies consideradas como comestibles como *Agaricus bisporus* pueden causar malestares estomacales (Arora, 1986).

Amanitaceae

Esta familia incluye a varias de las especies más tóxicas que existen, de la misma forma agrupa a algunos de los especímenes comestibles de los más apreciados. Se identifican por poseer láminas y esporada color blanco, presentan velo en etapas jóvenes y una volva. Contiene a dos géneros, *Amanita* hongos de apariencia algodonosa, posee escamas y velo y *Limacella*, hongos de textura pegajosa y limosa en el píleo y ocasionalmente en el estípite. Los miembros de esta familia suelen confundirse con la familia Lepiotaceae quien no posee volva ni píleo viscoso, y microscópicamente sus esporas son dextrinoides (Arora, 1986).

Tricholomataceae

Es la familia más grande y diversa de los agáricos, deja una esporada blanca que puede variar entre rosado y amarillento. Por lo general poseen estípites pero puede desaparecer dependiendo de la etapa de crecimiento o estar siempre ausente. No posee volva. Las láminas están unidas al estípites pero en estados juveniles se encuentran libres, usualmente son blandas, gruesas y cerosas, plegadas como en Cantharellaceae. Microscópicamente no hay esferocistos. Su valor nutrimental varía puesto que no todas las especies son comestibles o por su tamaño no se consideran de buena calidad. Normalmente crecen en suelo pero pueden encontrarse también en madera (Arora, 1986).

Lycoperdaceae

Son un grupo de hongos poco estudiados conocidos como “puffball” pertenecen al grupo de Gasteromycetes. El desarrollo del cuerpo fructífero ser epígeo o hipogeo, globoso y piriforme con un poro apical en la superficie y 2-3 capas exteriores. Las esporas son hialinas a color marrón, globosas u ovoides, lisas o verrugosas y menos de 6 μ de diámetro. Micelio con o sin septos, y esterigmas con diferentes morfologías. Crece en diferentes sustratos como suelo, humus y ocasionalmente en madera, son cosmopolitas y suelen formar anillos de hadas o rizomorfos (Pegler *et al.*, 1995).

Boletaceae

La mayoría de sus especies son comestibles, siendo muy apreciados por ser carnosos y de gran tamaño, los miembros de esta familia se caracteriza por poseer una capa de poros en lugar de láminas en la parte inferior del píleo, de lo contrario podrían parecerse a los

Agaricales de mediano tamaño, aunque también podrían ser similares a los Poliporaceos pero estos crecen en madera, son correosos y sus poros no se desprenden fácilmente. La superficie del píleo es liso y sus esporas son producidas en basidios que revisten la superficie de los tubos verticales por cuales son expulsados a la superficie de los poros cuando pasan corrientes de aire. Sus principales representantes son *Suillus*, *Leccinum*, *Tylopilus*, y *Boletus* llamándose a cualquier especie de esta familia como boletal. Poseen algunas características con los agaricales, como lo son no poseer volva ni anillo. Otra característica considerable es el cambio de coloración en poros y tejido al aplastarlos, manchándose de verde-azul no existiendo tal cambio en varias especies. Los boletales son aureolados poseyendo grietas poco profundas de fisuras a medida que van madurando exponiendo el tejido interno. En géneros como *Boletus* y *Tylopilus* el estípite es reticulado completamente o solo la parte superior tenue o muy marcado, existe también especies como en *Leccinum* que presentan escamas rugosas que obscurecen en la madurez y puntos glandulares que dejan manchas color marrón en la piel. La coloración de las esporas varía en amarillo, marrón, rojo o negro (Arora, 1986).

Cantharellaceae

Aquí se encuentran especies cuyos carpóforos son muy coloridos con morfología de vaso con un canal, la parte superior del píleo es estéril, encontrando al himenio en el interior o el exterior del cuerpo, puede ser liso o rugoso presentando láminas gruesas plegadas en la superficie o delgadas como en los agaricales. Sus basidios son delgados y alargados. Sus principales géneros son *Craterellus*, de coloración marrón oscuro, gris o negro y morfología similar a una trompeta, también posee esporas son lisas; el segundo género

Chantarellus presenta colores brillantes, de forma de florero con superficie convexa o plana, presencia de láminas y esporas lisas. *Polyzeuss* puede ser considerado como otro género, sin embargo puede ser separado en una familia propia (Arora, 1986).

Clavariadelphaceae, Ramariaceae, Gomphaceae, Clavariaceae

Estas familias pertenecen al orden Gomphales, considerándose a las especies de Ramariaceae dentro de Gomphaceae, pero también suele usarse el nombre de Ramariaceae, Gomphaceae y Clavariadelphaceae como sinónimos por su cercanía genética y similitudes morfológicas de hongos coral (Corner, 1970); sin embargo se suele considerar al miembros de la familia Clavariadelphaceae dentro de la familia clavaria al igual que a el género Ramaria (Arora, 1986).

Gomphaceae

Tiene morfología ramificada o forma de coral, con himenóforo suave doblado o con punta, con un contexto fino más o menos carnoso quebradizo, raramente gelatinoso de coloraciones pardas o blancas. Sus esporas son monomíticas o dimiticas, las hifas son delgadas con hinchazones, micelio ramificado y con septos. Los basidios claviformes con 2-4 esporas con o sin esterigmas; sus esporas son de formas subglobosas, elipsoides, subcilíndrica y ornamentadas, verrugosas, espinosas, granulares raramente lisas (Mass, 1971).

Clavariaceae

Se encuentran incluidos más de 30 géneros de colores variados, agrupa a especies carnosas con forma de coral no ramificado y a excepción de *Clavariadelphus* el cuerpo fructífero, no se diferencia en una superficie superior estéril y una inferior fértil. Tiene basidios ramificados y alineados. La base es estéril y estípite normalmente presente (Arora, 1986).

Helvellaceae

En general estos hongos poseen píleo y estípite, mientras el resto pose forma de copa. La mayoría de las especies pertenecen al género *Helvella*, algunas de estas presentan un estípite cóncavo revestido por el himenio en el interior o exterior y en otras la forma de copa gira de adentro hacia afuera conforme va madurando creando lóbulos. En los *Gyromitra* el píleo tiene forma similar a un cerebro. Microscópicamente sus ascos no son amiloides con esporas rugosas que por lo regular tienen de una a tres gotas de aceite. Al poseer sustancias tóxicas incluso las especies comestibles de esta familia deben consumirse con mucha precaución identificarse con mucho cuidado, además de ser cocinados perfectamente sin consumirse en altas cantidades (Arora, 1986).

Morchelaceae

Se encuentra conformada por solo tres géneros *Verpa*, *Disciotis* y *Morchella*, este último se considera como el principal y el cual tiene un píleo intercrecido del estípite. En *Verpa* el estípite es suave, arrugado y picoteado como un dedal. *Disciotis* carece de un estípite bien desarrollado llegando a confundirse con un *Peziza*, su forma es de una taza con franjas. Los

ascos de esta familia no son amiloides y poseen esporas elípticas lisas y con diminutas coronas de gotas de aceite en los extremos (Arora, 1986).

Russulaceae

Los miembros de la familia Russulaceae se diferencian del resto de las especies laminadas por la anomia de su micelio, el cual contiene esferocistos que se intercalan con las hifas dando una textura granular. Sus esporas son amiloides, ornamentadas y con espinas y/o crestas puesto que están dispuestas como una roseta en esferocistos rodeando el estípite donde se van intercalando con hifas filamentosas. En esta familia destacan dos géneros, el primero *Lactarius* cuya característica principal es que segrega látex al romperse, mientras que *Russula* no lo hace, su esporada es blanca y sus esporadas varían entre blanco, amarillo, ante u ocre. Ambos géneros forman micorrizas. Su sabor es acre y amargo, muchas de estas especies son tóxicas; se dice que para determinar si una especie posee el sabor acre se debe masticar un pedazo pequeño de estípite con láminas durante un minuto y escupirse, se deberá sentir una sensación de ardor en la lengua (Arora, 1986).

JUSTIFICACIÓN

Los hongos silvestres comestibles son importantes como alimento estacional de la población, no sólo por su sabor sino por las propiedades medicinales que desempeñan los metabolitos que poseen, como el manitol, quien ofrece opciones alimentarias para controlar enfermedades como la diabetes, problemas en vías urinarias e hipertensión motivo por el cual es importante analizar las concentraciones de manitol en las especies más consumidas por la población de alguna región modelo o típica de consumo etno-tradicional de México, al catalogarse al municipio de Temoaya como una región indígena, que conserva parte de su población otomí, y contar con una gran tradición micófaga, al adicionar hongos silvestres comestibles durante la temporada de lluvias a la dieta, expandiéndose esta tradición hacia sus comunidades, entre ellas San Pedro Arriba se decidió utilizar las especies de este sitio como modelo experimental.

HIPÓTESIS

Los hongos silvestres comestibles provenientes de los bosques de la localidad San Pedro Arriba, municipio de Temoaya, Estado de México, al ser deshidratados presentarán variaciones significativas en la concentración de manitol.

OBJETIVO GENERAL

Cuantificar las concentraciones de manitol en tejido seco de diferentes especies de hongos comestibles pertenecientes a la localidad de San Pedro Arriba, Temoaya, Estado de México.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Obtener carpóforos y biomasa en forma de tejido seco de las 20 especies de hongos comestibles más consumidas en San Pedro Arriba, mediante deshidratación para extraer manitol.
2. Extraer manitol de las muestras deshidratadas por el método orgánico a base de digestión etanólica y cuantificar sus concentraciones por espectrofotometría UV-visible para correlacionar sus resultados con estándares nutrimentales reportados.
3. Obtener el listado de las especies comestibles con mayor concentración de manitol para ser seleccionadas como las especies con mayor potencial terapéutico en la dieta local.

MÉTODO

1. Zona de estudio

Los especímenes utilizados fueron extraídos de bosques de la localidad de San Pedro Arriba, en el Estado de México, la cual se encuentra localizada a 19°28'85"N y 99°36'45" O, y altura de 2,780 msnm (Zepeda, 2008), a 5 km de la cabecera municipal Temoaya "Lugar donde desciende", colinda con los siguientes municipios, al norte con Jiquipilco, Nicolás Romero e Isidro Fabela; al este Isidro Fabela y Otzolotepec; al sur con Otzolotepec y Toluca; al oeste Toluca, Almoloya e Ixtlahuaca. En este municipio predomina el clima templado subhúmedo con lluvias en verano (C(s)(w0) (Arzate, 1999), con un rango de temperatura entre los 6 y 14°C, con una precipitación entre 900 y 1300 mm. En cuanto al suelo la mayor parte es Vertisol (39.94%), Andosol (38.88%), Planosol (4.63%), Phaeozem (4.05%) y Luvisol (3.6%). Pertenece a la provincia del Eje Neovolcánico, subprovincia Lagos y Volcanes de Anáhuac, con un sistema topográfico compuesto por un lomerío de tobas en mayoría, está dentro de la región hidrológica Lerma Santiago y en un 0.7% a Pánuco. Los principales usos de suelo son agrícola (61.72%), urbano (6.87%), pastizal (17.53%) y bosque (11.85%), en el cual su vegetación está compuesta principalmente por pino, encino, ocote, cedro y oyamel. Esta región es considerada como zona marginada, dentro de ella aún se conserva el grupo étnico otomí (INEGI, 2009).



Figura 5. Bosque de coníferas en la localidad de San Pedro Arriba.

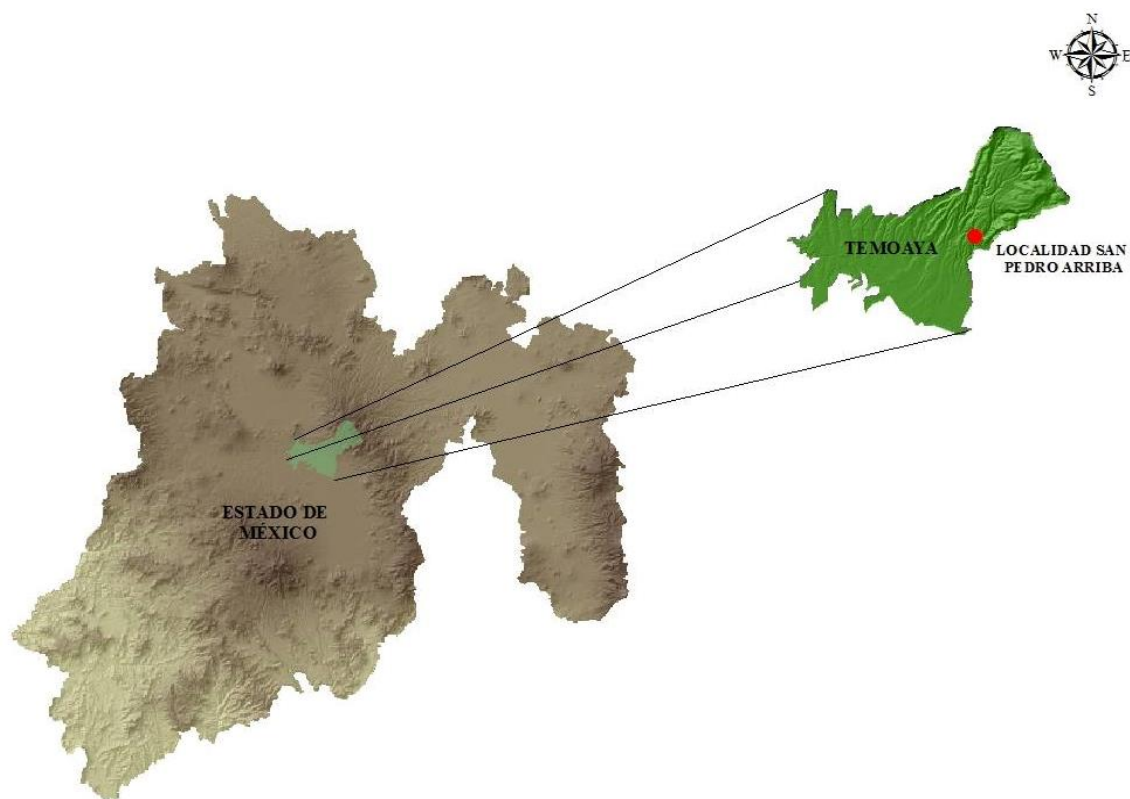


Figura 6. Mapa que muestra la ubicación de San Pedro Arriba en el Municipio de Temoaya, Estado de México.

2. Recolección

Se identificaron las especies de hongos comestibles silvestres que son consumidas con más frecuencia en la región, asistiendo al mercado de la cabecera municipal, realizándose una encuesta (Fig. 7) a 20 personas de las cuales 8 eran comerciantes (2 hombres y 6 mujeres) preguntando que especies son las más demandadas y 12 compradores (2 hombres y 10 mujeres) que especies consumen más frecuentemente. Se identificó estas con nombre común a través del carpóforo en vivo y en caso de no encontrarse con ayuda de fotografías. Según la frecuencia de mención se tomaron las 20 especies más mencionadas, y así estas fueron recolectadas en bosques de San Pedro Arriba durante la temporada de lluvias Julio-Octubre 2015; adicionándose 2 especies de hongos cultivados que fueron utilizadas como testigos *Agaricus bisporus* y *Pleurotus ostreatus*.

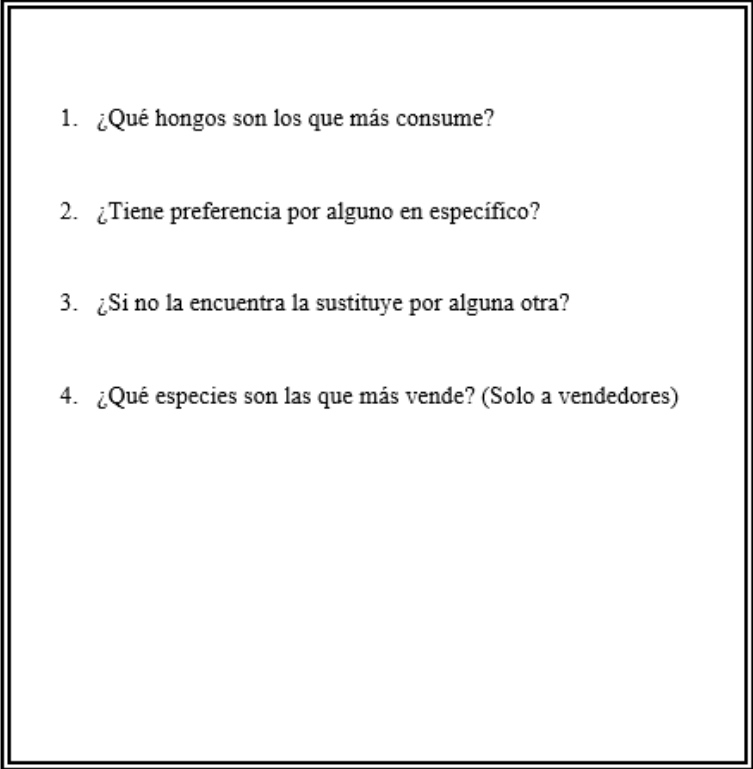
- 
1. ¿Qué hongos son los que más consume?
 2. ¿Tiene preferencia por alguno en específico?
 3. ¿Si no la encuentra la sustituye por alguna otra?
 4. ¿Qué especies son las que más vende? (Solo a vendedores)

Figura 7. Encuesta realizada a vendedores y compradores para obtener las especies más consumidas

3. Deshidratación e Identificación

Las 22 especies fueron identificadas macroscópicamente por características como morfología y coloración del píleo y espite, presencia de anillo, volva, escamas, láminas o poros y la posición de estos, haciendo uso de manuales de identificación (Arora, 1986; Gerhardt *et al.*, 2000), la página Myco Web (Wood, 2016) y fichas de CONABIO. Los especímenes fueron sometidos a deshidratación en una cámara de secado por 24-48 horas dependiendo de la cantidad de agua que poseían. Posteriormente cada especie se identificó microscópicamente realizando dos cortes, el primero en láminas o poros en Basidiomycetes y en lóbulos o alveolos para Ascomycetes con la intención de observar la estructura reproductora y sobre todo morfología y tamaño de las esporas. El segundo corte se realizó en la parte intermedia del píleo y el estípite para Basidiomycetes o en la parte intermedia del tejido estéril en caso de no estar bien diferenciados, mientras que en Ascomycetes el corte se hizo en la parte intermedia del estípite, con este corte se observaron las hifas midiéndose su ancho. Cada corte fue hidratado con una gota de KOH 10% y se dejó reposar durante 10 minutos adicionándose posteriormente una gota de rojo congo y después de colocar el cubreobjetos se oprimió suavemente y observó en el microscopio óptico a 100x tomándose fotografías de las estructuras de interés, midiendo cada una. Las esporas fueron medidas a lo largo y ancho sacando el promedio en 10 de ellas por especie, mientras que para obtener un promedio del ancho de las hifas por especie, se midieron 10 de estas.

4. Extracción y cuantificación

Considerando los procedimientos de Reis *et al.*, (2013a) y Reis *et al.*, (2013b) se creó una técnica de extracción a microescala a base de solventes orgánicos para manitol en cuerpos fructíferos de hongos previamente deshidratados, por lo cual se macero cada especie por separado utilizándose un mortero con pistilo, y se sometió a una digestión alcohólica pesándose un gramo del tejido adicionándose de 3 a 4 mL de alcohol 80% dependiendo de qué tan fibroso se veía el concentrado, se mezcló perfectamente y se agito cada 30 minutos dejándose reposar los siguientes 30 durante una hora y media. Pasado este lapso se colocaron las muestras en rotovapor hasta alcanzar punto de ebullición por 5 minutos e inmediatamente se lavó tres veces filtrando con whatman No 4 y 5 mL de éter etílico consecutivamente. Se aforo a 10 mL con agua destilada y se hizo una dilución 1:10 también con agua destilada para leer cada muestra por triplicado en un espectrofotómetro UV-visible a una absorbancia de 450 nm según el Kit Assay (Abcam, 2013; SIGMA-ALADRIC, 2015) para Mannitol. Los resultados obtenidos se valoraron en una curva de calibración para obtener la concentración en mg/g. Esta curva de calibración se realizó diluyendo 10 diferentes concentraciones de fructosa grado reactivo (0.05, 0.1, 0.15...0.5 g) en 1 mL de agua destilada, leyendo a 450 nm también por triplicado. Los resultados obtenidos para las especies que se encuentre reportado se compararon con la recopilación hecha por Kalak (2016) en hongos de Europa.

Se agrupó a las especies por familia comparándose las concentraciones de cada una y finalmente se realizó una gráfica de comparación de los resultados obtenidos

experimentalmente con los encontrados en la literatura para las especies que contaban con estudios previos.

5. Aplicación de pruebas estadísticas

Una vez obtenidas las concentraciones de manitol en mg/g con ayuda del paquete estadístico Statgraphics Centurion 16.103 se realizaron comparaciones para observar si existían diferencias significativas entre las especies aplicando un Análisis de Varianza (ANOVA) y posteriormente con la prueba de Diferencia Mínima Significativa de Fisher (LSD) para hacer una comparación múltiple de medias, agrupando por parejas los resultados obtenidos y finalmente observar si se creaba algún grupo homogéneo entre las especies de San Pedro Arriba que pudiera sustituir a otra.

RESULTADOS

I. Obtención de las especies más consumidas por la frecuencia de demanda.

A un total de 20 individuos se les realizó una pequeña encuesta (Fig. 7) con la intención de averiguar cuáles eran las especies más consumidas por la población. Del total de menciones que se hizo de todos los hongos se sacó la frecuencia de demanda para cada especie, eligiéndose solo a las 20 más consumidas (Tabla 4).

Tabla 4. Muestra el porcentaje de la frecuencia con la que fueron mencionadas las especies de hongos silvestres siendo estas las de mayor demanda por la población de San Pedro Arriba.

ESPECIE	NOMBRE COMÚN	FRECUENCIA % DE DEMANDA
<i>Boletus edulis</i>	Cemita	75
<i>Amanita rubescens</i>	Mantecoso	60
<i>Agaricus campestris</i>	Hongo de San Juan/llanero	60
<i>Morchella</i> aff. <i>elata</i>	Mazorquita	50
<i>Amanita</i> aff. <i>caesarea</i>	Huevos/pollos	50
<i>Morchella</i> aff. <i>conica</i>	Mazorquita	50
<i>Helvella crispa</i>	Gachupin	45
<i>Helvella lacunosa</i>	Gachupin blanco	45

<i>Gyromitra infula</i>	Arrugados	45
<i>Ramaria formosa</i>	Patita de pájaro	45
<i>Russula brevies</i>	Oreja	40
<i>Cantharellus cibarius</i>	Trompeta/durazno	40
<i>Lactarius salmonicolor</i>	Enchilado	35
<i>Gomphus floccosus</i>	Trompeta	35
<i>Russula sanguinea</i>	Madroño	35
<i>Lycoperdon perlatum</i>	Terneritas	35
<i>Clavariadelphus truncatus</i>	Flauta/Cocote	30
<i>Russula olivacea</i>	Trompa	30
<i>Lactarius scrobiculatus</i>	Oyamel	25
<i>Clitocybe nebularis</i>	Señoritas/clavitos	25
<i>Clitocibe scuamulosa</i>	Señoritas	20
<i>Ramaria botrytis</i>	Pajarito/árbol	20
<i>Agaricus augustus</i>	Gavilán	20
<i>Lactarius indigo</i>	Oreja azul	15

II. Listado de especies utilizadas

Se eligieron las 20 especies con más frecuencia de demanda, y se adicionaron las dos especies más cultivadas en el país como testigos *Pleurotus ostreatus* y *Agaricus bisporus*

- | | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| - <i>Russula olicacea</i> | - <i>Cantharellus cibarius</i> |
| - <i>Russula sanguinea</i> | - <i>Morchella</i> aff. <i>elata</i> |
| - <i>Russula brevipes</i> | - <i>Morchella</i> aff. <i>conica</i> |
| - <i>Lactarius scrobiculatus</i> | - <i>Lycoperdon perlatum</i> |
| - <i>Lactarius salmonicolor</i> | - <i>Clavariadelphus truncatus</i> |
| - <i>Amanita</i> aff. <i>caesarea</i> | - <i>Helvella crispa</i> |
| - <i>Amanita rubescens</i> | - <i>Helvella lacunosa</i> |
| - <i>Agaricus campestris</i> | - <i>Gyromitra infula</i> |
| - <i>Ramaria formosa</i> | - <i>Clitocybe nebularis</i> |
| - <i>Gomphus floccosus</i> | - <i>Pleurotus ostreatus</i> |
| - <i>Boletus edulis</i> | - <i>Agaricus bisporus</i> |

III. Especies identificadas por sus características macroscópicas y microscópicas

Especies utilizadas para la cuantificación de manitol recolectadas en la comunidad de San Pedro Arriba, identificadas por sus características macroscópicas observadas en fresco, fotografías tomadas y algunos rasgos conservados después de la deshidratación, se tomó en cuenta morfología de píleo, estípites y la coloración y textura de los mismos. La caracterización microscópica se llevó a cabo con la observación a microscopio óptico de estructuras como hifas y esporas, para comparar ambas características con la información previamente reportada.

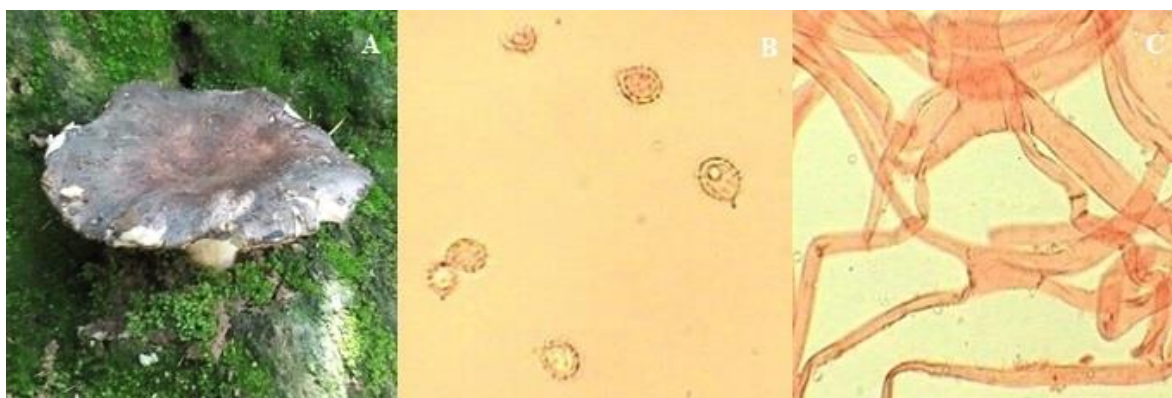


Figura 8. *Russula olivacea* A) Carpóforo con **Pi.** plano-convexo, coloración que varía entre marrón y púrpura y contexto blanco al igual que el **Est.** el cual es glabro, ausente de velo, con las **L.** adheridas a, el que van separándose a medida que va madurando mostrándose blancas en etapas jóvenes y crema amarillentas al madurar, **Ctx.** blanco. B) **Esp.** subglobosas-obovoides con ornamentaciones verrugosas no reticuladas que en promedio miden $8.2 \times 5 \mu$. C) **Hi.** septadas con 4.8μ de ancho.



Figura 9. *Russula sanguinea* A) **Pi.** convexo a plano-convexo en ocasiones volteado hacia arriba, coloración rojiza variando si se expone al agua, volviéndose viscoso, **L.** blancas con tonalidades crema amarillentas adheridas al **Est.** que se va haciendo hueco al madurar y que posee una coloración blanca con manchas ligeramente rojizas, **Ctx.** blanco. B) **Esp.** de $6.5 \times 4.9 \mu$, subovoides-sublipsoides con ornamentaciones que le dan un aspecto verrucoso, **Bas.** en forma de botella (basidios sin esporas). C) **Hi.** septadas con 3.3μ ancho.



Figura 10. *Russula brevipes* A) **Pi.** con margen curvo y forma convexa undido en el centro y casi infundibuliforme al madurar, a menos de que se moje su textura es suave y lisa, color blanca pero suele tornarse un poco amarilla al madurar, **L.** decurrentes y adheridas de coloración ligeramente amarillenta, el **Est.** es blanco pardo amarillento, **Ctx.** blanco. B) Microscópicamente se pueden observar **Esp.** de forma subglobosa, subelipsoidal y subovoide con ornamentaciones que le dan

apariciencia verrucosa o espinosa, las cuales miden $8 \times 6.3 \mu$. C) Basidios en forma de botella. D) **Mic.** compuesto por **Hi.** septadas de 4.5μ .

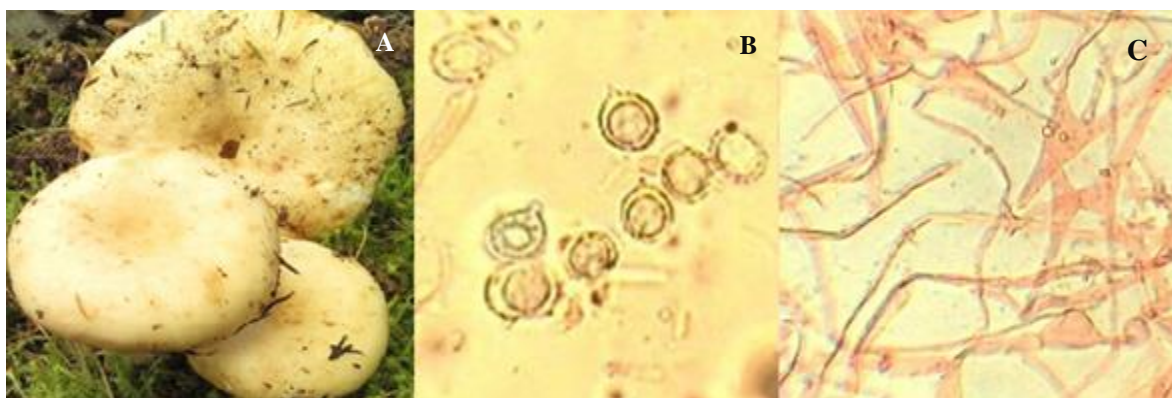


Figura 11. *Lactarius scrobiculatus* A) Posee látex, poseen un **Pi.** pulvinado que al ir madurando se hace plano-convexos con una depresión central y un margen incurvado, sus **L.** están adheridas al **Est.** cilíndrico sin **Vol.** ni **An.**, son densas y de color claro al ser jóvenes tornando a tonos naranjas al madurar, **Ctx.** amarillo. B) **Esp.** que en promedio miden $7.8 \times 5.5 \mu$, morfología elipsoidal con ornamentaciones que le dan una apariencia verrucosa. C) **Mic.** delgado y sepado, **Hi.** de 3.8μ de grosor.

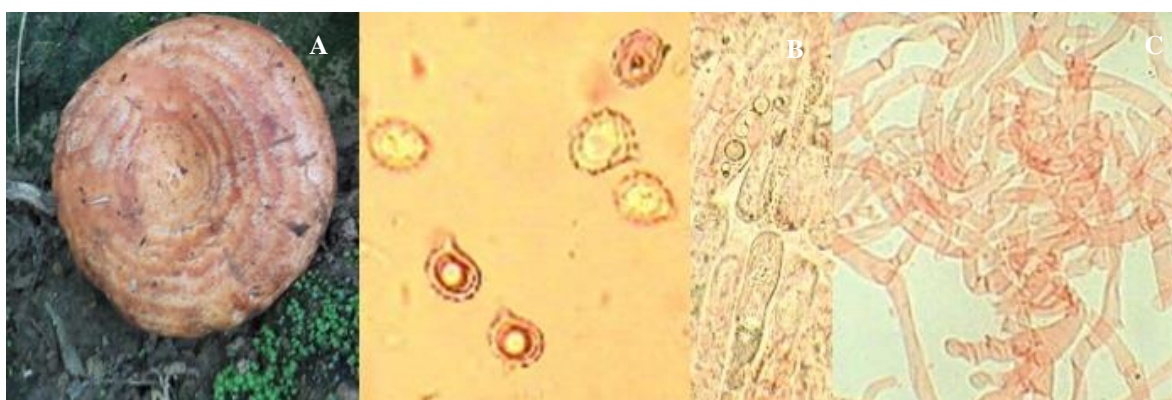


Figura 12. *Lactarius salmonioclus* A) ligeramente pegajoso al tacto debido al látex, en etapas jóvenes su **Pi.** es convexo y se va aplanando conforme va madurando, tiene un margen incurvado, zonas concéntricas de color blanquecino mientras que el resto del carpóforo es de tonos

anaranjados a salmón las **L.** comparten este color pero pueden ser más claras y no cambian de color, el **Est.** es cilíndrico sin **An.** ni **Vol.**, no se mancha de verde y su **Ctx.** anaranjado. B) Las **Esp.** son elipsoidales y ornamentadas que miden en promedio $7.4 \times 5.2 \mu$, son más pequeñas que las reportadas en bibliografía, pero el resto de las características ayudaron a la identificación de esta especie, C) **Bas.** En forma de botella alargados. D) **Mic.** septado con **Hi.** de 3.5μ de ancho.

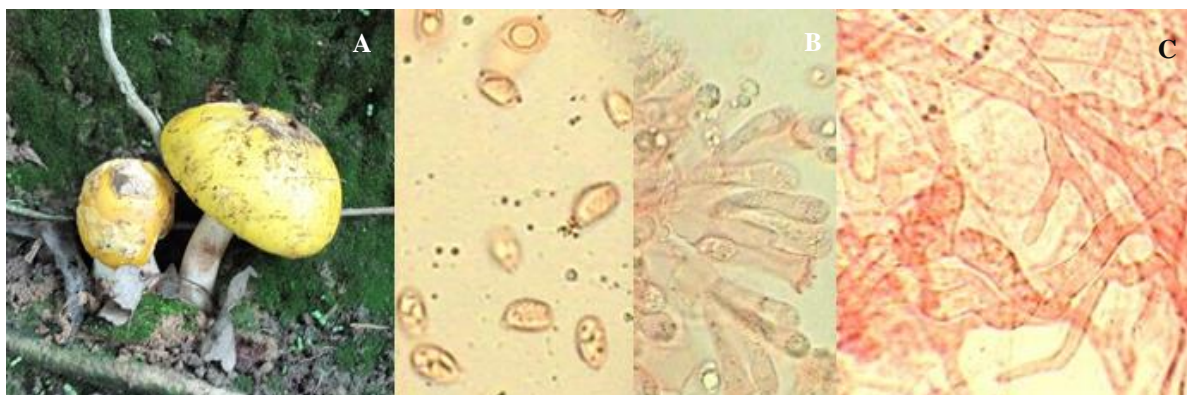


Figura 13. *Amanita* aff. *caesarea* A) Carpóforos en estadios juveniles, con **Pi.** globoso que conforme madura se volverá convexo y aplanado, su coloración externa varía entre diferentes tonos de amarillo, siendo el más frecuente uno rojizo, de superficie viscosa y muy raramente **Esc.** sus **L.** son densas y libres de color amarillo, **Ctx.** color blanco, **Est.** cilíndrico de coloración clara ligeramente amarillenta y cubierto por **Vol.** B) **Esp.** en promedio de $8.1 \times 4.9 \mu$, lisas y elipsoidales. C) **Bas.** en forma de botella. D) **Hi.** septadas de 5.7μ .

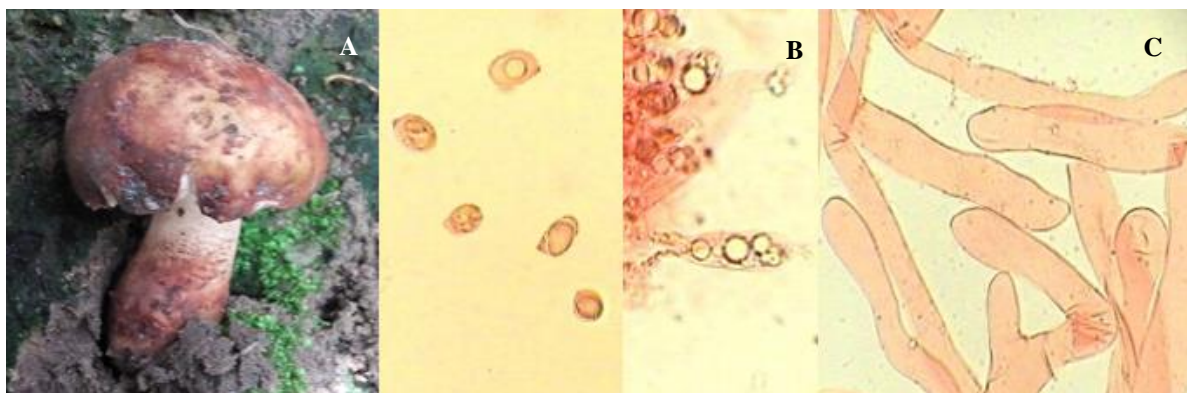


Figura 14. *Amanita rubescens* A) Carpóforo joven con **Pi.** café rojizo subgloboso que al madurar se vuelve plano-convexo, puede presentar **Esc.** de tonos café rojizo oscuro con **L.** libres blanquecinas manchadas de rojo al igual que el **Est.** el cual es cilíndrico con **An.** y **Vol.** blancos manchados de rojo, **Ctx.** blanco. B) **Esp.** elipsoidales y lisas que miden $8.3 \times 4.9 \mu$. C) **Bas.** Alargados en forma de botella. D). **Mic.** septado, cada **Hi.** en promedio tiene 7.4μ de grosor.

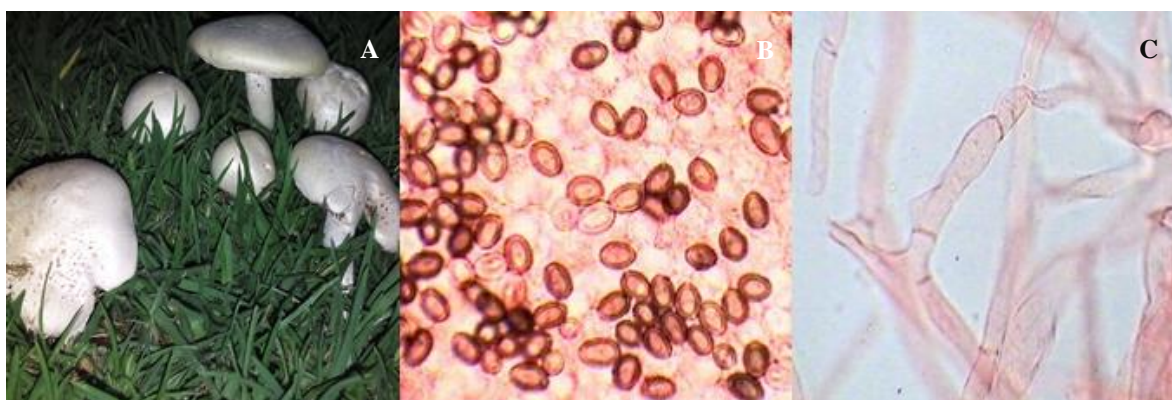


Figura 15. *Agaricus campestris* A) Los carpóforos pueden mostrar pequeñas **Esc.** en el **Pi.** el cual es de morfología variable dependiendo de la madurez, es globoso en etapas jóvenes volviéndose convexo y aplanado al madurar, **L.** rosadas que se van cambiando hasta llegar a púrpura oscuro en la madurez, **Est.** cilíndrico sin **Vol.** pero si posee **An.** B) **Esp.** lisas y elipsoidales con pared gruesa de $8.1 \times 4.8 \mu$. C) **Mic.** septado y con presencia de **Fib.**, las **Hi.** con un grosor de 5.3μ en promedio.



Figura 16. *Ramaria formosa* A) El carpóforo es ramificado a partir de cinco ramas principales ligeramente en círculo, termina en 4 puntas, su coloración inicia siendo blanquecino en la base y se va tornando de tonos salmonados al inicio de las ramas principales hasta llegar a ser amarillo en las puntas donde se encuentra el **Him**, al abrirse el **Ctx.** es color blanco. B) **Esp.** que miden $11.2 \times 3.5 \mu$, de forma elipsoidal o cilíndrica ornamentadas verrugas que dan la impresión de formar líneas discontinuas. C) **Mic.** septado con 5.2μ de grosor.

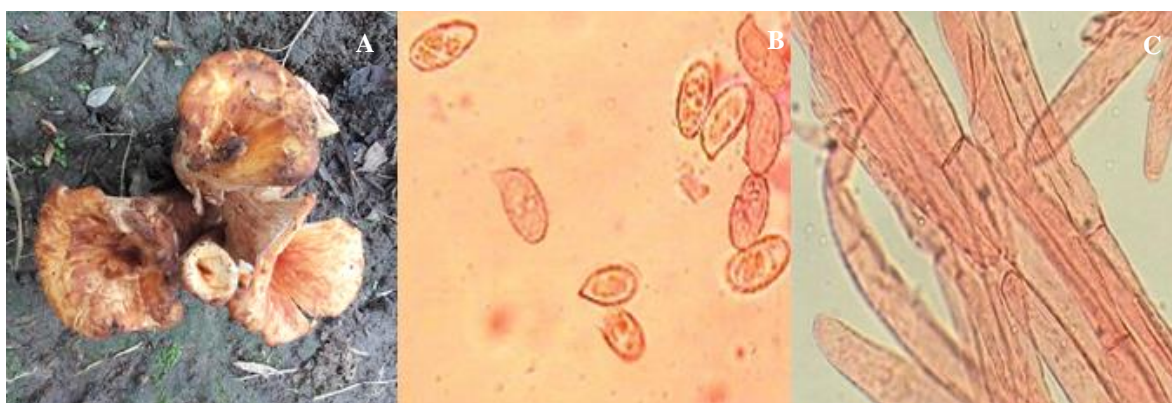


Figura 17. *Gomphus floccosus* A) Cilíndrico pero termina con forma de trompeta sin **Pi.** ni **Est.** Bien diferenciados, **him.** en las **L.** presentes a lo largo de lo que asemeja a un **Est.** La parte superior es estéril y presenta una depresión profunda, **Ctx.** blanco ligeramente anaranjado, no presenta ni **Vol.** ni **An.** B) **Esp.** elípticas de $11.4 \times 7.2 \mu$ en promedio. C) **Hi.** septadas de 8.5μ de ancho .



Figura 18. *Boletus edulis* A) Carpóforos de gran tamaño, **Pi.** de color café claro que oscurece al madurar o entrar en contacto con la luz, como **Him.** posee **Pr.** que le dan la apariencia de una esponja, el **Est.** es claviforme de color beige y cubierto por una retícula blanca hasta la mitad, en general su textura da una apariencia blanda, **Ctx.** blanco ligeramente crema, al tocarse no azulea. B) **Esp.** alargadas ablongo-fusiformes de $12 \times 4.5 \mu$. C) **Hi.** septadas de 4.4μ de ancho.

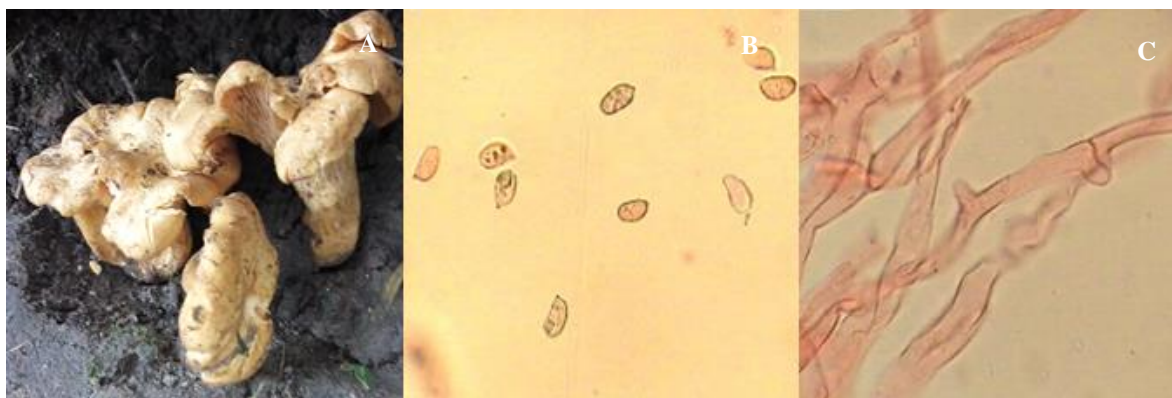


Figura 19. *Cantharellus cibarius* A) Presenta coloración amarilla, este carpóforo tiene una forma irregular pluviniiforme, similar a una trompeta, **Pi.** amplio con borde ondulado irregularmente con pliegues bifurcados y **L.** en la parte inferior, **Est.** corto y cilíndrico que va disminuyendo el grosor a medida que se descende, **Ctx.** Amarillo. B) **Esp.** de forma elipsoidal $8.3 \times 4.5 \mu$. C) **Hi.** 5.7μ de grosor en promedio.



Figura 20. *Morchella* aff. *elata* A) Carpóforo maduro, hueco al partirse a la mitad, muy sensible al agua, **Pi.** de coloración negra y forma oval con ápice obtuso de coloración grisácea, sus costillas son delgadas y rectilíneas de color negro, con algunos alveolos rectangulares, el **Est.** es surcado y con tricómas grises sobre las arrugas. B) **Asc.** que contienen 8 **Esp.** dentro, al ser liberadas miden en promedio $20.5 \times 14 \mu$. C) **Mic.** septado en promedio 8.1μ de grosor.

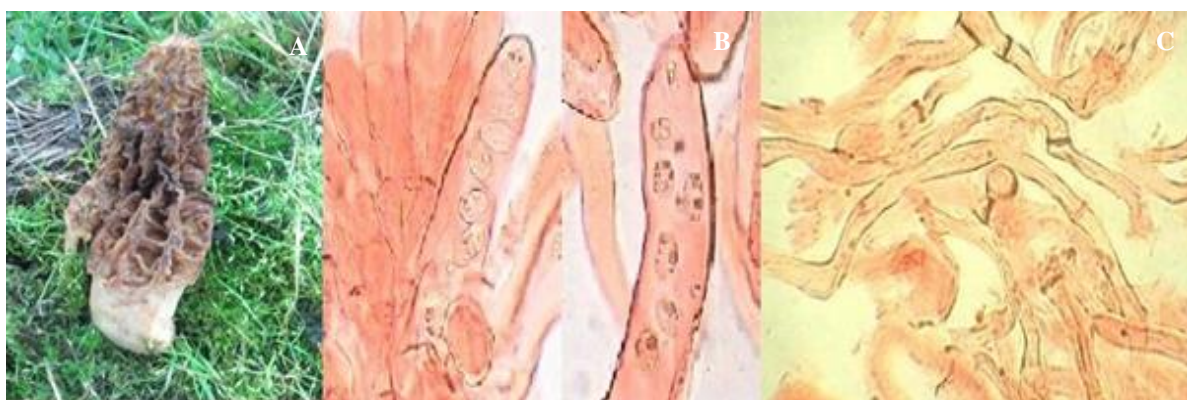


Figura 21. *Morchella* aff. *conica* A) **Pi.** y **Est.** huecos, ambos cónicos y de coloración castaño ocráceo claro siendo el píleo más oscuro de mayor tamaño aunque casi miden lo mismo de ancho, sus costillas son oscuras y los alveolos cuadrangulares. B) **Asc.** cilíndricas que contienen 8 **Esp.** elipsoidales de $21.4 \times 13.1 \mu$ en promedio (1: **Asc.** inmaduras con **Esp.** dentro y una madura fuera, 2: **Asc.** Con **Esp.** inmaduras). 14C) **Mic.** septado, en promedio las **Hi.** tienen un grosor de 6.7μ .

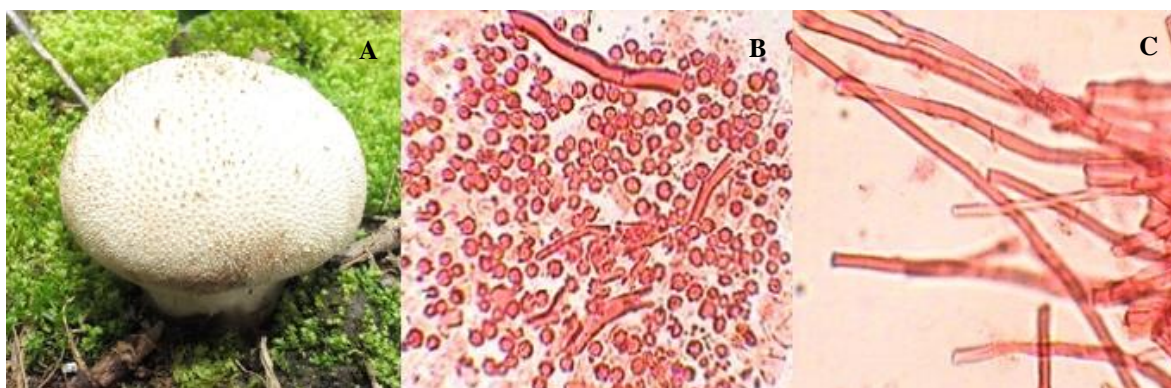


Figura 22. *Lycoperdon perlatum* A) Carpóforos que poseen **Pi.** y **Est.** bien diferenciados, su forma es de una pera invertida cubierto de ornamentaciones similares a agujas, color blanco en fresco y al madurar y secarse se vuelve café que continua expulsando **Esp.** por un orificio que se forma en la parte superior, el **Hi.** se encuentra en el interior. B) Las **Esp.** son redondas y con ornamentaciones alrededor que le dan una apariencia verrucosa, miden 3 μ , además tienen pequeñas prolongaciones parecidas a un cilio demasiado corto. C) Sus **Hi.** son delgadas con forma y terminación cuadrangular, de 2.7 μ de ancho.

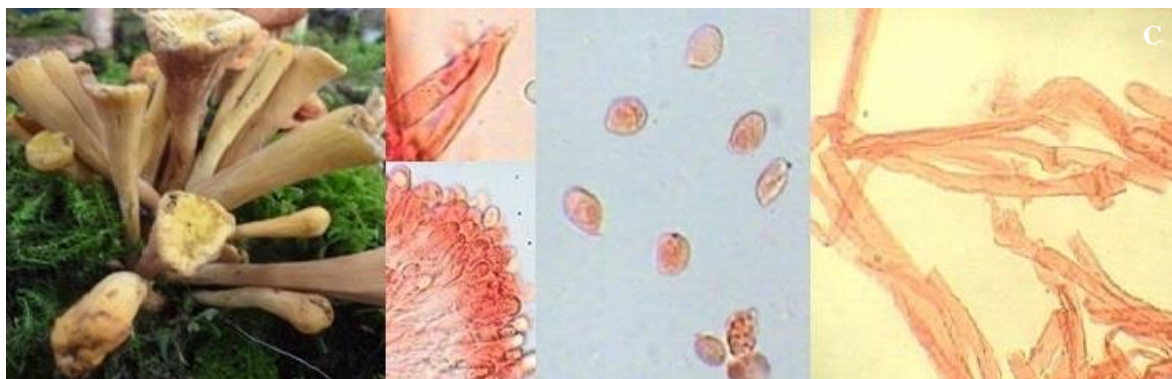


Figura 23. *Claviradelphus truncatus* A) Forma claviforme, sin **Pi.** ni **Est.** diferenciados, el cuerpo es alargado y delgado que se va ensanchando hasta llegar a un ápice aplanado con una ligera depresión en el centro y ondulaciones irregulares en el margen, el cuerpo presenta ligeras depresiones que le dan un aspecto acanalado, **Him.** presente en toda la superficie exterior del cuerpo. Al abrirse el tejido es de color amarillo. B): 1 Basidios con esterigmas, 2 Basidios inmaduros, 3 **Esp.** elípticas y lisas de 7.6x5.2 μ . C) **Mic.** septado con hifas de 7.8 μ de grosor.

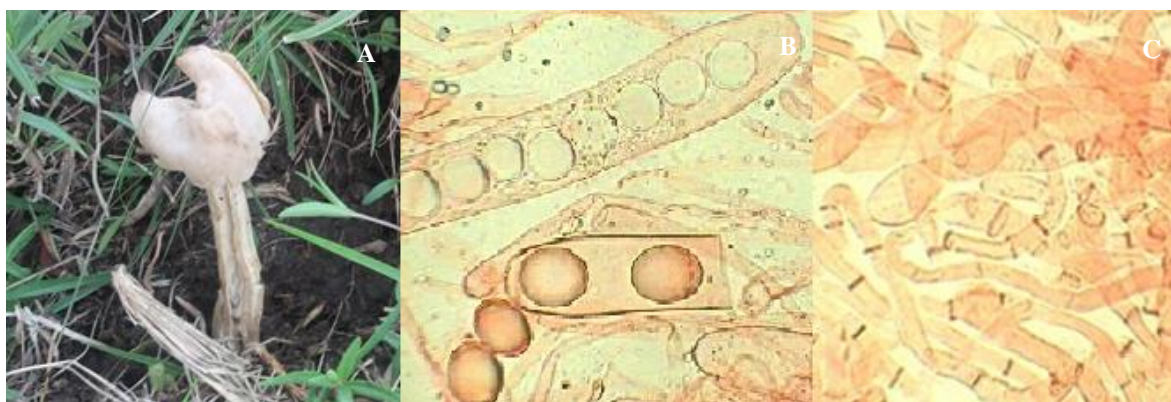


Figura 24. *Helvella crispa* A) Coloración blanca, **Pi.** lobulado con pliegues, contiene el **Hi.** en la parte dirigida al exterior, **Est.** sin **Vol.** ni **An.**, con pliegues en el exterior y hueco. B) **Asc.** alargadas de forma cilíndricas con 8 **Esp.**. Sus **Esp.** son elipsoidales que pueden dejar evidente un aglutinamiento de aceite, miden en promedio $17.1 \times 12.6 \mu$. C) **Mic.** septado 7μ de grosor.

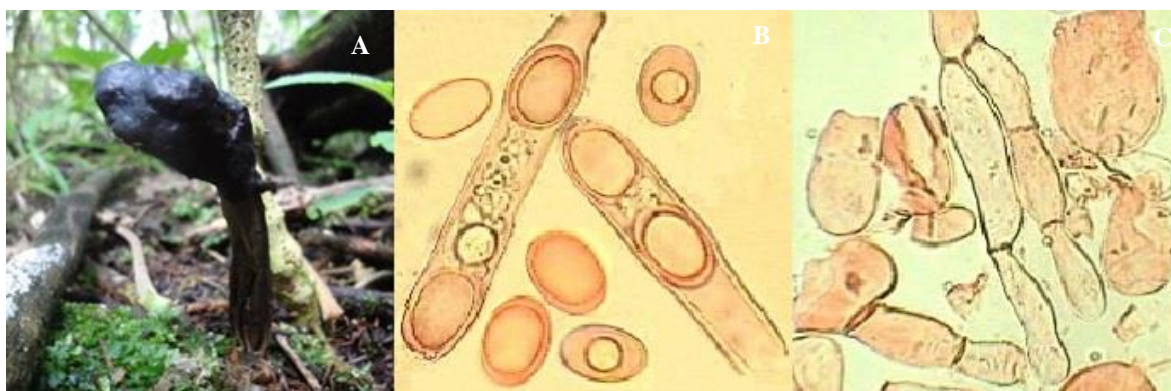


Figura 25. *Helvella lacunosa* A) Coloración de gris a negro, el **Pi.** está dividido en tres lóbulos irregulares plegados al **Est.** y que contiene al himenio en el exterior de los lóbulos, el **Est.** es delgado lleno de pliegues a lo largo y de coloración más clara que el **Pi.**, no posee **Vol.** ni **An.** B) Las **Asc.** cilíndricos y alargados, contienen 8 **Esp.** con aglutinaciones de aceite, miden en promedio $16.2 \times 9.2 \mu$. C) **Hi.** septadas de 3.9μ de ancho.



Figura 26. *Gyromitra infula* A) Carpóforo con **Pi.** dividido en tres lóbulos arrugados por los pliegues y unidos al **Est.** liso, todo es color café rojizo, no presenta **Vol.** ni **An.** B) **Asc.** Cilíndricas y alargadas con 8 esporas lisas y elipsoidales dentro que al ser liberadas miden en promedio $21.6 \times 10 \mu$. C) **Mic.** septado de 9.4μ de grosor.

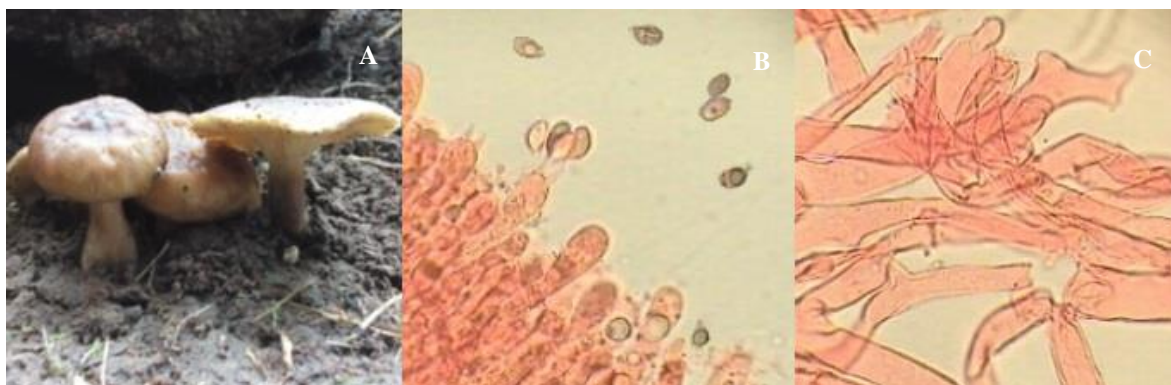


Figura 27. *Clitocybe nebularis* A) Posee un **Pi.** de diferentes morfologías dependiendo de la etapa de crecimiento, de joven puede ser umbonado volviéndose convexo, aplanado y deprimido al madurar, su coloración es grisacea con **L.** de color blanquecino, densas y brevemente decurrentes **Est.** claviforme de color grisaseo ligeramente blanquecino sin **Vol.** ni **An.** B) **Bas.** con 4 **Esp.** adheridas, en promedio cada espora mide $5.5 \times 3.4 \mu$, son lisas y subglobosas. C). **Mic.** Compuesto de **Hi.** Septadas que en promedio miden 8.3μ de grosor.



Figura 28. *Pleurotus ostreatus* A) **Pi.** de color blanco perla suave y liso, en la parte inferior posee **L.** blanquecinas decurrentes anastomosadas densas al llegar al **Pi.** el cual es de color blanco, cilíndrico y corto, **Ctx.** blanco. B) **Bas.** en forma de botella, con **Etg.** que acaban de liberar **Esp.** C) **Esp.** oblongo cilíndricas lisas de $7.2 \times 2.4 \mu$. D) **Mic.** septado con **Hi.** de 7.1μ de grosor en promedio.

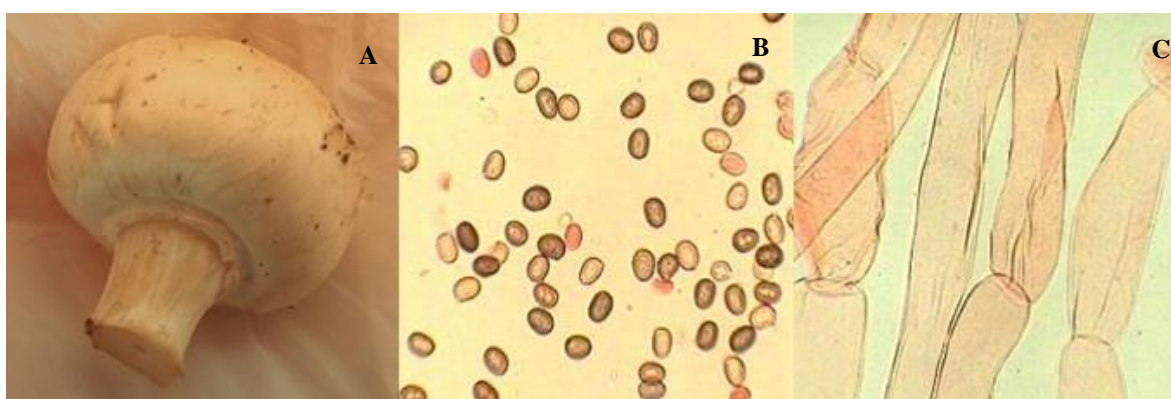


Figura 29. *Agaricus bisporus* A) Su **Pi.** posee morfología globosa es de mayor tamaño que el **Est.**, el cual es cilíndrico de coloración un poco más amarillenta, **L.** de coloración clara en etapas jóvenes y purpura o café al envejecer, se encuentran cubiertas por un velo, **Ctx.** blanco. B) **Esp.** elípticas $4.7 \times 4.9 \mu$. C) **Mic.** con septos y **Fib.**, sus **Hi.** miden 12.9μ de grosor.

IV. Absorbancias y concentraciones de manitol obtenidas

A continuación se muestran las absorbancias y concentraciones obtenidas a lo largo de este proceso, como la curva de calibración (Tabla 5), realizada para valorar la absorbancia del manitol al ser extraído de los hongos silvestres que posteriormente fue graficada (Fig. 30).

Tabla 5. Absorbancia obtenida por espectrofotometría UV-visible en 10 concentraciones diferentes de fructosa grado reactivo en 1 mL de agua para crear la curva de calibración.

gr	ABSORBANCIA
0.01	0.042
0.05	0.054
0.1	0.061
0.15	0.066
0.2	0.058
0.25	0.071
0.3	0.072
0.35	0.078
0.4	0.083
0.45	0.082
0.5	0.09

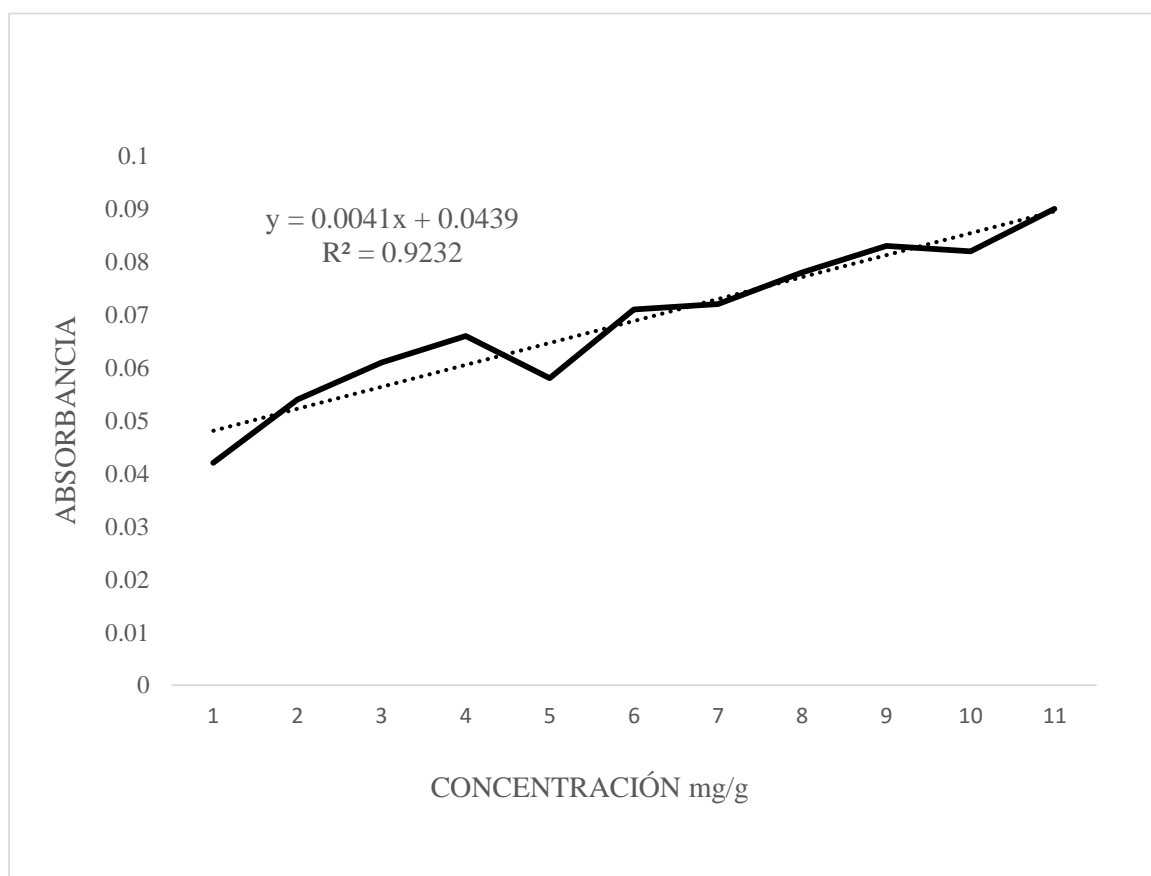


Figura 30. Curva de calibración obtenida de la absorbancia de las 10 disoluciones de fructosa grado reactivo en agua destilada donde se obtuvo un 92% de confianza, lo que la hace confiable para valorar las absorbancias de manitol.

Las especies de hongos silvestres y cultivados mostraron diferentes concentraciones de manitol en su tejido seco. *Russula olivacea* mostro la concentración más elevada y *Lycoperdon perlatum* la más baja (Tabla 6).

Tabla 6. Concentraciones de manitol por cada g de tejido fúngico seco mg/g.

ESPECIE	CONCENTRACIÓN (mg/g)
<i>Russula olivacea</i>	377.58
<i>Russula sanguinea</i>	257.34
<i>Russula brevipes</i>	182.95
<i>Lactarius scrobiculatus</i>	100.26
<i>Lactarius salmonicolor</i>	204.09
<i>Amanita aff. caesarea</i>	279.83
<i>Amanita rubescens</i>	102.95
<i>Agaricus campestris</i>	210.51
<i>Ramaria formosa</i>	79.15
<i>Gomphus floccosus</i>	115.14
<i>Boletus edulis</i>	83.92
<i>Cantharellus cibarius</i>	75.8
<i>Morchella aff. elata</i>	168.31
<i>Morchella aff. conica</i>	136.85
<i>Lycoperdon perlatum</i>	65.39
<i>Clavariadelphus truncatus</i>	77.09
<i>Helvella crispa</i>	126.12
<i>Helvella lacunosa</i>	98.56
<i>Gyromitra infula</i>	261.24
<i>Clitocybe nebularis</i>	134.17
1T MAX <i>Pleurotus ostreatus</i>	326.36
1T MIN <i>Agaricus bisporus</i>	54.65

V. Tablas y gráficas obtenidas de análisis estadísticos

Análisis de Varianza ANOVA obtenido en base a las concentraciones de manitol de cada especie analizada donde las medias son significativamente diferentes unas de otras con $p < 0.05$ (Tabla 7).

Tabla 7. ANOVA obtenida de las concentraciones de manitol.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor - p
Entre grupos	526296	21	25061.7	37468.99	0.0000
Intra grupos	29.4301	44	0.668866		
Total (Corr.)	526326	65			

Para saber si existían especies homologas en cuanto a las concentraciones de manitol, y así en caso de no encontrar alguna especie, se pudiera consumir otra de igual o similar valor se sometieron las concentraciones obtenidas para cada hongo a una prueba de LSD (Tabla 8) donde solo se obtuvo un solo grupo homogéneo.

Tabla 8. Grupos obtenidos de la prueba Least Significant Sifference de Fisher (LSD) 95%

Especie	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1 T MIN <i>Agaricus bisporus</i>	3	54.821	X
<i>Lycoperdon perlatum</i>	3	65.39	X
<i>Cantharellus cibarius</i>	3	75.9133	X

<i>Clavariadelphus truncatus</i>	3	77.1787	X
<i>Ramaria formosa</i>	3	79.2503	X
<i>Boletus edulis</i>	3	84.0083	X
<i>Helvella lacunosa</i>	3	98.4797	X
<i>Lactarius scrobiculatus</i>	3	100.349	X
<i>Amanita rubescens</i>	3	102.951	X
<i>Gomphus floccosus</i>	3	115.309	X
<i>Helvella crispa</i>	3	126.447	X
<i>Clitocybe nebularis</i>	3	134.333	X
<i>Morchella aff. conica</i>	3	136.854	X
<i>Morchella aff. elata</i>	3	168.48	X
<i>Russula brevipes</i>	3	183.114	X
<i>Lactarius salmonicolor</i>	3	204.273	X
<i>Agaricus campestris</i>	3	210.512	X
<i>Russula sanguinea</i>	3	257.423	X
<i>Gyromitra infula</i>	3	261.325	X
<i>Amanita aff. caesarea</i>	3	279.922	X
1 T MAX Pleurotus ostreatus	3	326.366	X
<i>Russula olivacea</i>	3	377.585	X

Las especies fueron agrupadas por familia, con la intención de ver quien poseía los niveles más altos de manitol. Según la similitud de sabores los pobladores suelen agruparlos para cocinarlos como ocurre en el caso de Amanitaceae, Russulaceae y Agaricaceae (Fig. 31).

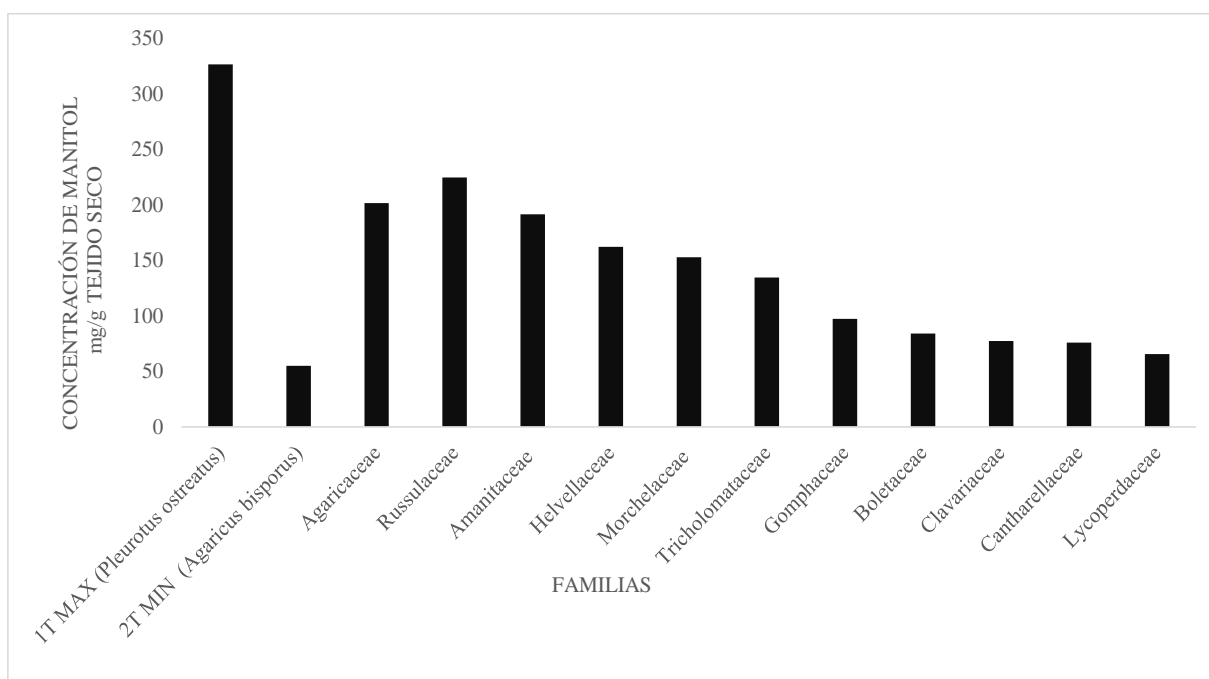


Figura 31. Comparación de concentraciones de manitol por familia donde Russulaceae mostró las concentraciones más altas y Lycoperdaceae las más bajas.

Al realizarse una comparación entre los resultados obtenidos y los previamente reportados en especies europeas, donde solo la especie 1 T MIN *Agaricus bisporus* muestra concentraciones similares. También se puede observar que *Agaricus campestris*, *Boletus edulis* y *Pleurotus ostreatus* tienen diferentes concentraciones y en *Cantharellus cibarius* las concentración varían pese a que el análisis lo realizó mismo autor (Tabla 9, Fig. 32).

Tabla 9. Comparación de especies mexicanas reportes previos de especies europeas.

Especie	Concentración de manitol experimental (mg/g)	Concentración de Manitol bibliográfica (mg/g)	Referencia
<i>Agaricus</i>	210.51	169	Pereira <i>et al.</i> , 2012
<i>campestris</i>		55.90	Glamočlija <i>et al.</i> , 2015
<i>Amanita</i> aff. <i>cesarea</i>	179.83	3	Fernandes <i>et al.</i> , 2015c
<i>Boletus edulis</i>	83.92	34.60	Barros <i>et al.</i> , 2008b
		24.50	Heleno <i>et al.</i> , 2011
		11.30	Fernandes <i>et al.</i> ,
		1.50	2013b
			Fernandes <i>et al.</i> , 2014b
<i>Cantarellus</i>	75.8	139	Barros <i>et al.</i> , 2008a
<i>cibarius</i>		83.30	Barros <i>et al.</i> , 2008b
<i>Licoperdon</i>	65.39	0.20	Barros <i>et al.</i> , 2008a
<i>perlatus</i>			
<i>Russula olivacea</i>	377.58	153	Grangeia <i>et al.</i> , 2011
<i>Agaricus bisporus</i>	54.65	56	Reis <i>et al.</i> , 2012
<i>Pleurotus ostreatus</i>	326.36	3.60	Yang <i>et al.</i> , 2001
		No reportado	Kim <i>et al.</i> , 2009
		5.40	Reis <i>et al.</i> , 2012
		8.70	Obodai <i>et al.</i> , 2014

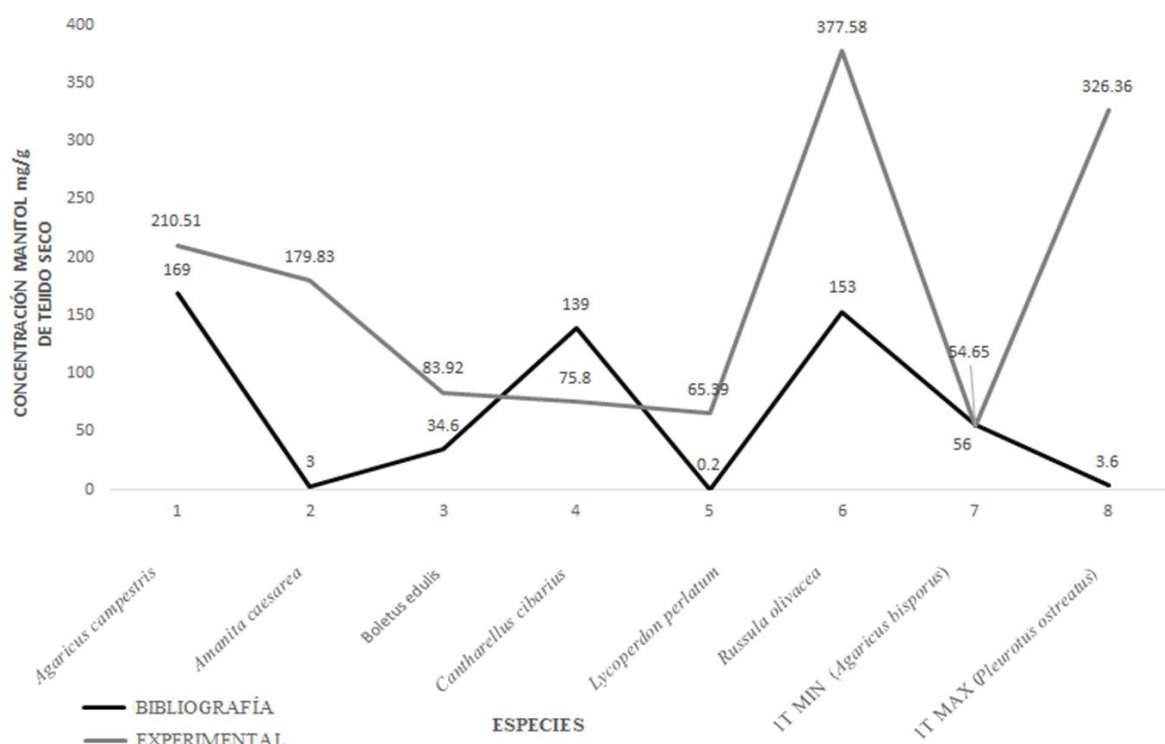


Figura 32. Muestra una comparación de los resultados experimentales con los previamente reportados en hongos europeos mostrando una cercanía entre la especie testigo 1T MIN *Agaricus bisporus* y la más lejana con 1T MAX *Pleurotus ostreatus*, en cuanto al valor previo, se usó el más cercano al experimental.

DISCUSIÓN

Tomando en cuenta que para el estado de México se reportan 65 especies de hongos comestibles identificados (Guillén y Baeza, 2014) y en la realización de esta investigación se consideraron solo 20 de las especies más consumidas en la localidad de San Pedro Arriba, se considera a esta comunidad como un sitio con un amplio conocimiento sobre los hongos silvestres.

La técnica de extracción a base de solventes orgánicos y lectura con espectrofotometría UV-visible resultó ser eficaz para la extracción y cuantificación de manitol puesto que la especie testigo 1T MIN *Agaricus bisporus* que es sometida a condiciones específicas de cultivo, mostró una concentración muy similar a la obtenida por Reis *et al.*, (2012).

La deshidratación de carpóforos es una alternativa para el almacenamiento de hongos (Barros *et al.*, 2007), que nos permite tener este alimento disponible durante todo el año dejando de limitar el consumo de carpóforos silvestres de hongos a la temporada de lluvias, se comprobó que con este método se conservan no solo los cuerpos fructíferos, sino también el manitol, ya que como lo menciona Liu *et al.* (2016), la mejor forma de conservar los nutrientes de un hongo es mediante la deshidratación.

La elección de las dos especies cultivadas se llevó a cabo esperando que al menos una de ellas concordara con lo reportado en bibliografía debido a que ambas especies son cultivadas en condiciones controladas para su producción (Guzmán *et al.*, 2008), a diferencia de especies silvestres quienes al estar sometidas a diversas condiciones

ambientales reaccionan de manera diferente, así que se eligió a las dos especies más cultivadas a nivel mundial y las más comercializadas en el país (Andrade *et al.*, 2012).

Como ya se mencionó la concentración de 1 T MIN *Agaricus bisporus* fue similar a la reportada por Kalač (2016), mientras que 1T MAX *Pleurotus ostreatus* no tiene similitud con lo reportado, debido a las variaciones que hay entre subespecies, en este sentido existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre especies y valores reportados (Tabla 7). La concentración obtenida durante esta experimentación es superior a cualquiera de las reportadas. De igual forma, existen diferencias significativas al comparar las diferentes concentraciones de manitol obtenidas entre cada una de las especies analizadas.

Con la prueba LSD, de las 24 especies analizadas se crearon 23 grupos, de los cuales solo uno contenía dos especies homogéneas *Cantharellus cibarius* y *Clavariadelphus truncatus*, siendo estas las únicas especies que podrían sustituirse la una con la otra para obtención de manitol.

No se encontraron reportes de todas las especies utilizadas durante esta experimentación, pero al comparar lo reportado por la literatura con los resultados experimentales se confirmó que como menciona Kalač (2006), es importante analizar las especies de hongos silvestres por zona geográfica puesto que las especies reportadas en la recopilación provienen solo de Europa, y se encontraron variaciones en cuanto a los niveles de manitol, pudiendo existir y estas variaciones con otros metabolitos de estas y otras especies fúngicas.

Con la intención de comparar que especies poseen más manitol, entre las silvestres y las cultivadas, se obtuvo lo siguiente, respecto a 1T MIN las especies silvestres mostraron poseer mayores concentraciones de manitol, mientras que en el caso de 1T MAX que en general ocupa el segundo lugar en concentraciones elevadas, supera a todas las especies silvestres excepto a *Russula olivacea*.

La especie que mostro mayores concentraciones de manitol fue *Russula olivacea*, siendo la menos frecuente, y pese a que *Lycoperdon perlatum* tuvo una mayor frecuencia de mención, es la especie que posee las concentraciones más bajas de manitol.

Boletus edulis es la especie más frecuente, incluso la que posee un precio más elevado, sin embargo posee cantidades bajas de manitol, esta especie es la más apreciada debido a su tamaño pero en ocasiones no es comerciada por su valor monetario siendo sustituida por otros hongos como *Russula brevipes*. Otras especies que se utilizan con frecuencia como sustitutos una de otra son *Amanita rubescens* y *Amanita caesarea* puesto que las personas dicen que tienen un sabor similar, sin embargo según LSD no fueron agrupadas como valores homogéneos.

Agrupando las especies por familia también entre ellas existen diferencias significativas. Pese a que las especies de la familia Russulaceae no poseen la mayor frecuencia de demanda, si cuenta con las concentraciones más altas respecto al resto de las familias. La familia que contiene la concentración más baja de manitol y ocupa el sexto lugar de preferencia es Lycoperdace.

La especie 1T MIN *Agaricus bisporus* posee las menores concentraciones de manitol de todas las analizadas tanto de silvestres como cultivadas pese a que es la más consumida en el país, por lo cual sería importante hacer un perfil nutrimental para observar si posee algún otro compuesto que pueda hacer benéfica su ingesta.

Al comparar la recopilación hecha por Kalač (2016), se obtuvieron valores muy distantes, a excepción de la especie testigo 1T MIN *Agaricus bisporus*, quien como se esperaba mostro valores similares a los obtenidos en esta experimentación. En cuanto a los hongos silvestres se obtuvieron diferentes resultados aunque se trataba de la misma especie muy probablemente debido a que cada organismo dependiendo de su zona de procedencia está sometido a diferentes condiciones ambientales y por lo tanto de estrés, lo que lo obliga a desarrollar en mayor o menor medida ciertos mecanismos para sobrevivir y esto podría afectar la segregación de ciertas moléculas como los metabolitos (Fiehn, 2002), tal podría ser el caso del manitol que es auxiliar ante situaciones de estrés (Hult *et al.*, 1980; Ruijter *et al.*, 2003).

Los precios del manitol de forma comercial (Chromadex, 2016), podrían resultar inaccesibles a gran parte de la población, por lo cual el consumo de hongos silvestres podría traerles los beneficios de este fármaco.

La localidad de San Pedro Arriba podría verse beneficiada si incrementara el consumo de *Russula olivacea* quien presenta las mayores concentraciones de manitol, pero cuya frecuencia de demanda es de las más bajas (30%), a diferencia de *Boletus edulis* cuya demanda del 75% lo hace el espécimen más consumido, pero la concentración de manitol es de las más bajas, así que este proyecto podría continuar con una fase de difusión en la

población, donde se les indique que especies poseen mayores concentraciones de manitol y por tanto resultar más benéficas en cuanto a las propiedades que este metabolito puede aportar.

Es importante conocer la presencia y concentración de otros metabolitos en hongos silvestres comestibles que pueden aportar beneficios a la salud de la población mexicana, y de la misma forma hacer comunicar los resultados obtenidos, sugiriendo el consumo de los especímenes que puedan aportar mayores beneficios nutricionales, mejorando así, el estado de salud.

CONCLUSIÓN

- Se obtuvieron diferencias significativas entre las concentraciones de manitol para todas las especies evaluadas.
- La deshidratación de carpóforos permite el almacenamiento y conservación de los especímenes y las concentraciones de manitol en su tejido.
- La técnica de extracción a base de solventes orgánicos y lectura por espectrofotometría UV-vis es eficiente para la cuantificación de manitol en tejido fúngico deshidratado.
- Las especies de hongos comestibles de San Pedro Arriba, Temoaya, presentan una alta concentración de manitol comparada con las especies europeas reportadas.
- Se obtuvo el listado de las especies de hongos comestibles para la población de San Pedro Arriba, Temoaya, así como los ejemplares que poseen las concentraciones más altas de manitol.
- Las especies de hongos silvestres de San Pedro Arriba, Temoaya, poseen concentraciones de manitol más altas que la especie cultivada y más consumida: *Agaricus bisporus*.
- La especie que mostro poseer mayores concentraciones de manitol fue *Russula olivacea* y las más bajas *Lycoperdon perlatum*, ambas especies tienen diferencias de consumo.

BIBLIOGRAFÍA

Abcam discover more. (2013). D-Mannitol Colorimetric Assay Kit ab 155890. Disponible en internet en: www.abcam.com Consultado 15 Junio 2015

Agelet A. and Vallès J. (2003). Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Pallars (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula). Part III. Medicinal uses of non-vascular plants J. Ethnopharmacol. 84 (2-3). pp. 229–234.

Alexopoulos C.J., Mims C.W., Blackwell M. (1996). Introductory Mycology. 4 ed. Ed. John Wiley & Sons, Inc. United States of America. pp 2, 26-28.

Andrade G. R. H., Mata G., Sánchez J. E. (2012). Hongos comestibles y Medicinales en Iberoamérica. La producción iberoamericana de hongos comestibles en el contexto internacional. ECOSUR. pp 9.

Arora D. (1986). Mushrooms Demystified. 2^a ed. Ten Speed Press Berkeley. China. pp 103, 129, 293, 310, 488, 658, 784, 796.

Arzate, J. 1999. Temoaya, Monografía Municipal, Instituto de Mexiquense de Cultura, Gobierno del Estado de México, México. pp: 5-6.

Balasundram N., Sundram K., Samman S., (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chem. 99 (1). pp 191–203.

Barros L., Baptista P., Correia D. M., Morais J. S., Ferreira I. C. E. R., (2007). Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* 55 (12). pp 4781-4788.

Beluhan S., y Ranogajec A. (2011). Chemical composition and non-volatile components of 397 Croatian wild edible mushrooms. *Food Chemistry.* 124 (3). pp 1076–1082.

Biovision. D-Mannitol Clororimetric Assay Kit. Disponible en Internet en: <http://www.biovision.com/d-mannitol-colorimetric-assay-kit-5902.html>. Consultado 20 Enero 2016.

Ceccaroli P., Saltarelli R., Cesari P., Pierleoni R., Sacconi C., Vallorani L., Rubini P., Stocchi V. and Martin F. (2003). Carbohydrate and amino acid metabolism in *Tuber borchii* mycelium during glucose utilization: a C NMR study. *Fungal Genet. Biol.* 39 (2). pp 168–175.

Christensen M., Bhattarai S., Devkota S., Larsen H.O., (2008). Collection and Use of Wild Edible Fungi in Nepal. *Economic Botani.* 62 (1). pp 12–23.

ChromaDex, 2015. Disponible en internet en: <https://chromadex.com/search?SearchParam=mannitol> Consultado el 20 Julio 2016

Corner E.J.H. (1970). Supplement to 'A monograph of *Clavaria* and allied genera'. *Beihefte zur Nova Hedwigia.* 33. pp 1-299

Crockford D. J., Maher A. D., Ahmadi K. R., Barrett A., Plumb R. S., Wilson I. D., Nicholson J. K., (2008). ¹H NMR and UPLC-MS(E) statistical heterospectroscopy:

characterization of drug metabolites (xenometabolome) in epidemiological studies. *Anal. Chem.* 80 (18). pp 6835–44.

DrunkBank. (2016). Mannitol. Disponible en internet en: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00742> Consultado 18 Agosto 2016.

Feofilova E. P., Tereshina V. M., Garibova L. V., Zav'ialova L. A., Memorskaia A. S., Maryshova, N. S. (2004) Germination of basidiospores of *Agaricus bisporus*. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* Vol 40. pp 220–226.

Fiehn O. (2002). Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes. *Plant Physiology*. 48. Germany. pp 155–171.

Garibay-Orijel R. y Ruan-Soto F. (2014). Listado de los hongos silvestres consumidos como alimento tradicional en México, A. Moreno-Fuentes y R. Garibay-Orijel (eds.), *La etnomicología en México: estado del arte*, Red de Etnoecología y Patrimonio Biocultural-Asociación Etnobiológica Mexicana-Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo-Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp 99-120.

Garibay-Orijel R., Caballero J., Estrada-Torres A., Cifuentes J. (2006). People using macrofungal diversity in Oaxaca, México. *México. Fungal Diversity*. (21). pp 41-67.

Gerhardt E.; Vila J., Llimona X. (2000). *Hongos de España y de Europa*. Ed. OMEGA. España.

Griffin J. L. and Shockcor J. P (2004). Metabolic profiles of cancer cells. *Nat. Rev. Cancer*. 4 (7). pp 551–61.

Griffin J. L. and Vidal-Puig A. (2008). Current challenges in metabolomics for diabetes research: a vital functional genomic tool or just a ploy for gaining funding? *Physiol. Genomics*. 34 (1). pp 1–5.

Guillén J. and Baeza A. (2014). Radioactivity in mushrooms: A health hazard? *Food Chemistry*. Vol 154. pp 14-25.

Guzmán G. (1984). El uso de los hongos en Mesoamérica. México, DF, México. *Ciencia y Desarrollo* 59. Pp 17-27.

Guzmán G. (1994). Los hongos y líquenes en la medicina tradicional mexicana. *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. Instituto Nacional Indigenista. México. 3 pp 1427-1487.

Guzmán G. (1998). Análisis cualitativo y cuantitativo de la diversidad de los hongos en México. *La Diversidad Biológica de Iberoamérica. Acta Zoológica Mexicana*. CYTED-D/Instituto de Ecología/Secretaría de Desarrollo Social. Xalapa, Veracruz, México. 2 p. 111-175.

Guzmán G., Mata G., Salmenes D., Soto-Velazo C., Guzmán-Davalos L. (2008). El cultivo de los hogos comestibles con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales. *Instituto Politécnico Nacional*. pp 47, 63-66, 75-81, 91-93.

Hanson J. R. (2008). *The Chemistry of fungi*. Royal Society of Chemistry. Cambridge. U.K. pp. 2

Hawksworth D. L. (2001). The magnitude fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*. 105 (12). U.K. pp 1422-1432.

Herrera T. y Guzmán G. (1961). Taxonomía y ecología de los principales hongos comestibles de diversos lugares de México. *An. Inst. Biol. UNAM* 32. Pp 33-135.

Herrera T. y Ulloa M. (1998). *El reino de los hongos: micología básica y aplicada*. 2 ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México. pp 21-23

Hult K. y Gatenbeck S. (1978). Production of NADPH in the mannitol cycle and its relation to polyketide formation in *Alternaria alternata*. *European Journal of Biochemistry*. 88 (2). pp 607–612.

Hult K., Veide, A. and Gatenbeck, S. (1980). The distribution of the NADPH regenerating mannitol cycle among fungal species. *Archives of Microbiology*. 128 (2). pp 253–255.

INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos*. Temoaya, México. Clave geoestadística 15087. Disponible en línea en: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/15/15087.pdf>.

Consultado el 10 Febrero 2015.

Jarvis M.C., Miller A.M., Sheahan J., Ploetz K., Ploetz J., Watson R.R., Ruiz M.P., Villapan C.A.P., Alvarado J.G., Ramírez A. L., Orr B. (2004). Edible wild mushrooms of the Cofre de Perote region, Veracruz, Mexico: an ethnomycological study of common names and uses. *Economic Botanic*. 58. pp. 111–115.

Kalač P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chem.* 113. pp 9–16.

Kalač. P. (2016). Edible mushrooms: Chemical Composition and Nutritional Value. Project Manager. United States. Total 236. Usadas pp. 33-41.

KEGG, (2016). Disponible en internet en http://www.kegg.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D00062 Consultado 2 Agosto 2016.

Kirk P. M., Cannon P. F., David J. C., Stalpers J. A. (2001). Dictionary of the fungi. 9 ed. Wallingford. U. K. CABI Publishing.

Kulkarni, R.K. (1990). Mannitol metabolism in *Lentinus edodes*, the shitake mushroom. *Applied and Environmental Microbiology.* 56 (1). pp 250–253.

Lau B. F., Abdullah, N., and Aminudin, N. (2013). Chemical composition of the tiger's milk mushroom, *Lignosus rhinocerotis* (Cooke) Ryvarden, from different developmental stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 61 (20). pp 4890–4897.

Liu Y., Chen D., You Y., Zeng S., Li Y., Tang Q., Han G., Liu A., Feng C., Li C., Su Y., Su Z., Chen D. (2016). Nutritional Composition of *Boletus* Mushrooms from Southwest China and Their Antihyperglycemic and Antioxidant Activities. *Food Chemistry.* 211. pp 83-91.

Liu Y. T., Sun J., Luo Z. Y., Rao S. Q., Su, Y. J., Xu R. R. and Yang Y. J. (2012). Chemical composition of five wild edible mushrooms collected from Southwest China and

their antihyperglycemic and antioxidant activity. *Food and Chemical Toxicology* 50 (5). pp 1238–1244.

Lewis D. and Smith D. (1967) Sugar alcohols (polyols) in fungi and green plants. I. Distribution, physiology and metabolism. *New Phytol.* (66)2. pp 143–184.

Lindequist U., Niedermeyer T.H.J., Jülich W. D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *eCAM.* 2 (3). pp 285-299.

Maas G. R.A. (1971). Hydneous fungi of the eastern old world. *Verhandelingen Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen Afdeling Natuurkunde.* 60 (3). pp 1-176.

Manach C., Mazur A., Scalbert A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Curr. Opin. Lipidology.* 16. (1). pp 77–84.

Manzi, P., Aguzzi, A., Pizzoferrato L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chem.* 73 (3). pp 321–325.

Martin F., Ramstedt M., Söderhäll K., Canet D. (1988) Carbohydrate and amino acid metabolism in the ectomycorrhizal ascomycete *Sphaerosporella brunnea* during glucose utilization: a C NMR study. *Plant Physiol.* 86 (3). pp 935–940.

Martínez-Carrera D., Morales P., Sobal M., Bonilla M., Martínez W. (2007). México ante la globalización en el siglo XXI: El sistema de producción consumo de los hongos comestibles. In J. E. Sánchez, D. Martínez-Carrera, G. Mata, & H. Leal (Eds.), *El cultivo de setas Pleurotus spp. en México*. México: ECOSUR-CONACYT. pp 1-20

Martínez-Carrera D., Soval M., Aguilar A., Navarro M., Bonilla M., Larqué-Saavedra A. (1998). Canning technology as an alternative for management and conservation of wild edible mushrooms in Mexico. *Micologia Neotropical Aplicada* (11). pp 35-51.

Mariaca M. R., Pérez L. C. S., Castaños M. C. A. (2000). Proceso de recolección y comercialización de hongos comestibles silvestres en el Valle de Toluca, México. *Ciencia Ergo Sum.* 8 (1). pp 30-40.

Mattila P., Vaananen P-S., Konko K., Aro H., Jalava T. (2002). Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 50 (22). pp 6419–6422.

Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol.* (52). pp 673–751.

Montoya A., Hernández-Totomoch O., Estrada- Torres A., Kong A. (2000). Recetas Tradicionales para Cocinar Hongos Silvestres. Folleto Técnico (20). Fundación Produce Ixtacuixtla de Mariano Matamoros, Tlaxcala A.C. México. pp18.

Montoya A., Hernández-Totomoch O., Estrada-Torres A., Kong A., Caballero J., (2003). Traditional knowledge about mushrooms in a Nahua community in the state of Tlaxcala, Mexico. *Mycologia* 95(5). pp 793-806.

Montoya A., Kong A., Estrada-Torres A., Cifuentes J., Caballero J. (2004). Useful wild fungi of La Malinche National Park, México. *Fungal Div.* (17). pp 115-143.

Moreno F. A. (2014). Un recurso alimentario de los grupos originarios y mestizos de México: los hongos silvestres. *Anales de Antropología*. 48 (1). pp 241-272.

Morton N., Hammond J.B.W. and Dickerson A.G. (1985) The *Agaricus bisporus* mannitol pathway during sporophore growth. *Transactions of the British Mycological Society*. 85 (4). pp 671–675.

Nordström A., O'Maille G., Qin C., Siuzdak G. (2006). Nonlinear data alignment for UPLC-MS and HPLC-MS based metabolomics: quantitative analysis of endogenous and exogenous metabolites in human serum. *Anal. Chem*. 78 (10). pp 3289–95.

Oddo E., Saiano F., Alonzo G., and Bellimi E. (2002). An Investigation of the Seasonal Pattern of Mannitol Content in Deciduous and Evergreen Species of the Oleaceae Growing in Northern Sicily. *Annals of Botany*. 90 (2). pp 239-243.

Okoromah C.A.N., Afolabi B. B., Wall E. C. B. (2011). Mannitol and other osmotic diuretics as adjuncts for treating cerebral malaria. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (4). pp 1-10.

Ouzouni P.K., Petridis D., Koller W.D., Riganakos K.A. (2009). Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus, Greece. *Food Chem*. 115. pp 1575–1580.

Panchal I. I., Sen D. J., Shah S. K. (2014). Novel approach in diabetes mellitus: say no to sugar and yes to artificial sweeteners. *International journal of Pharmaceutical research and Bio-science*. 3 (2). pp 770-784.

Patel T. K. y Williamson D. (2016). Mannitol in Plants, Fungi, and Plant–Fungal Interactions. Trends in Plant Science. 20. USA. pp 1-12.

Pegler D.N.; Laessoe T.; Spooner B. (1995). British puffballs, earthstars and stinkhorns. pp 1-255. Poucheret P., Fons, F., Rapior S. (2006). Biological and pharmacological activity of higher fungi: 20-Year retrospective analysis. Mycologie. 27 (4). pp 311-333.

Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A., Oksman-Caldentey K. M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. Journal of Applied Microbiology. 90 (4). pp 494–507.

Reis F. S., Barros L., Calhella R. C., Čirić A., van Griensven L. J. L. D., Soković M., Ferreira I. C. F. R. (2013a). The methanolic extract of *Cordyceps militaris* (L.) Link fruiting body shows antioxidant, antibacterial, antifungal and antihuman tumor cell lines properties. Food and Chemical Toxicology. Vol. 62. pp 91-98.

Reis F.S., Čirić A., Stojković D., Barros L., Ljaljević-Grbić M., Soković M. and Ferreira F. R. (2013b). Effects of different culture conditions on biological potential and metabolites production in three *Penicillium isolates*. Drug Development and Industrial Pharmacy. 21 (2). pp 253-262.

Ruan-Soto. F. y Ordaz-Velázquez M. (2015). Aproximaciones a la Etnomicología Maya. Pueblos y fronteras. 10 (20). pp 44-69.

Ruan-Soto F., Cifuentes J., Mariaca R., Limón F., Pérez-Ramírez L., Sierra S. (2009). Revista Mexicana de Etnomicología. 29. pp 61-72.

Ruijter G. J., Bax M., Patel H., Flitter S. J., Van de Vondervoort P. J., de Vries R. P., VanKuyk P. A., Visser J. (2003). Mannitol is required for stress tolerance in *Aspergillus niger* conidiospores. Eukaryotic Cell. 2. pp 690–698.

Ruiz H. J. (2001). El Asombroso reino de los hogos. Avance y perspectiva. 20. pp 275-281.

Samuelsson L. M. and Larsson D. G. (2008). Contributions from metabolomics to fish research. Mol Biosyst. 4 (10). pp 974–9.

SIGMA-ALDRICH. (2015). D-Mannitol Colorimetric Assay Kit. Tecghnical Bulletin. Disponible en internet en: <http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Bulletin/1/mak096bul.pdf> Consultado 15 Junio 2015.

SIGMA-ALDRICH. (2016). Disponible en Internet en: http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/m9546?lang=es®ion=MX&cm_mmc=affiliate-metlin-M9546-metabolites Consultado el 3 Marzo 2016

Solomon P. S., Waters O. D. C., Oliver R. P. (2007). Decoding the mannitol enigma in filamentous fungi. Trends Microbiol. (15) 6. pp 257–262.

Stoop J.M.H., Williamson J. D., Pharr D. M., (1996). Mannitol metabolism in plants: a method for coping with stress. Trends Plant Sci. (1) 5 pp 139–144

Tan T. H. and Moore D. (1994). High concentrations of mannitol in the shiitake mushroom *Lentinula edodes*. Microbios 79. pp 31-35.

Villarreal L. and Gómez A. (1997). Inventory and monitoring wild edible mushrooms in Mexico: challenge and opportunity for sustainable development. En Palm ME. Chapela IH

(Eds.) Mycology in Sustainable Development: Expanding Concepts, Vanishing Borders. EEUU. pp 99-109.

Wasson V. P. y Wasson R. G. (1957). Mushrooms, Russia and history. 2. Nueva York. Pantheon Books.

Webster J. and Weber R. W. S. (2007). Introduction to fungi. 3 ed. Cambridge. pp1

Wishart D.S., Jewison T., Guo A. C., Wilson M., Knox C., Liu Y., Djoumbou Y., Mandal R., Aziat F., Dong E., Bouatra S., Sinelnikov I., Arndt D., Xia J., Liu P., Yallou F., Bjorndahl T., Perez-Pineiro R., Eisner R., Allen F., Neveu V., Greiner R., Scalbert A. (2013). The Human Metabolome Database 41. pp 801-807. Disponible en internet: <http://www.hmdb.ca/> Consultado 03 Marzo, 2016.

Wishart D. S., Knox C. Guo A. C., Eisner R., Young N., Gautam B., Hau D. D., Psychogios N., Dong E., Bouatra S., Mandal R., Sinelnikov I., Xia J., Jia L., Cruz J. A., Lim E., Sobsey C. A., Shrivastava S., Huang P., Liu P., Fang L., Peng J., Fradette R., Cheng D., Tzur D., Clements M., Lewis A., De Souza A., Zuniga A., Dawe M., Xiong Y., Clive D., Greiner R., Nazyrova A., Shaykhtudinov R., Li L., Vogel H. J., Forsythe I. (2009). HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. Nucleic Acids Research. 37. pp 603-610. Disponible en internet: <http://www.hmdb.ca/> Consultado 03 Marzo, 2016.

Wishart D. S., Tzur. D., Knox C., Eisner R., Guo C. A., Young N., Cheng D., Jewell K., Arndt D., Sawhney S., Fung C., Nikolai L., Lewis M., Coutouly M. A., Forsythe I., Tang P., Shrivastava S., Jeroncic K., Stothard P., Amegbey G., Block D., Hau D. D., Wagner J.,

Miniaci J., Clements J., Gebremedhin M., Guo N., Zhang Y., Duggan G. E., Macinnis G. D., Weljie A. M., Dowlatabadi R., Bamforth F., Clive D., Greiner R., Li L., Marrie T., Sykes B. D., Vogel H. J., Querengesser L. (2007). HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Research*. 35. pp 521-526. Disponible en internet: <http://www.hmdb.ca/> Consultado 03 Marzo, 2016.

Wood M. (2016) Mykoweb Mushrooms, fungi, mycology. Disponible en internet: <http://www.mykoweb.com/EdibleMushrooms/index.html> Consultado 08 Enero 2016.

Yahaya N. F. M., Rahman M. A., Abdullah N., (2014). Therapeutic potential of mushrooms in preventing and ameliorating hypertension. *Trends in Food Science & Technology*. 39 (2). pp 1-12

Zamora-Martínez M. C. and Nieto de Pascual-Pola C. (1995). Natural production of wild edible mushrooms in the southwestern rural territory of Mexico City, Mexico. *Forest Ecology and Management* 72 (1) pp 13-20.

Zhang J. J., Li Y., Zhou T., Xu D. P., Zhang P., Li S. Li H. B. (2016). Bioactivities and Health Benefits of Mushrooms Mainly from China. *Molecules*. 21 (7). pp 921-938.

Zepeda, N. (2008). Flora de San Pedro Arriba, Temoaya, Estado de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias A.

ANEXO I

Tabla 10. Lectura bruta para cada especie por triplicado obtenida al diluir 1 mL de extracto de hongo en 9 mL de agua destilada.

ESPECIE	DILUCIÓN (Agua destilada mL)	LECTURA BRUTA 450 nm	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTANDAR
<i>Russula olivacea</i>	1/10	1.592 1.594 1.59	1.592	0.002
<i>Russula sanguinea</i>	1/10	1.102 1.098 1.098	1.099333333	0.0023094
<i>Russula brevipes</i>	1/10	0.797 0.798 0.789	0.794666667	0.00493288
<i>Lactarius scrobiculatus</i>	1/10	0.458 0.454 0.454	0.455333333	0.0023094
<i>Lactarius salmonicolor</i>	1/10	0.7191 0.7146 0.72	0.762333333	0.0028931
<i>Amanita caesarea</i>	1/10	0.9434 0.94429 0.95675	0.94814667	0.00746398
<i>Amanita rubescens</i>	1/10	0.467 0.467 0.464	0.466	0.00173205

<i>Agaricus campestris</i>	1/10	0.912 0.909 0.9	0.907	0.006245
<i>Ramaria formosa</i>	1/10	0.3033 0.3033 0.3015	0.327	0.00103923
<i>Gomphus floccosus</i>	1/10	0.515 0.515 0.52	0.516666667	0.00288675
<i>Boletus edulis</i>	1/10	0.388 0.387 0.39	0.388333333	0.00152753
<i>Cantharellus cibarius</i>	1/10	0.20775 0.207 0.20925	0.208	0.00114564
<i>Morchella elata</i>	1/10	0.739 0.732 0.733	0.734666667	0.00378594
<i>Morchella conica</i>	1/10	0.606 0.604 0.605	0.605	0.001
<i>Lycoperdon perlatum</i>	1/10	0.314 0.311 0.311	0.312	0.00173205
<i>Clavariadelphus truncatus</i>	1/10	0.359 0.361 0.361	0.360333333	0.0011547
<i>Helvella crispa</i>	1/10	0.565 0.561 0.561	0.562333333	0.0023094

<i>Helvella</i>	1/10	0.448	0.447666667	0.00057735
<i>lacunosa</i>		0.447		
		0.448		
<i>Gyromitra infula</i>	1/10	1.116	0.594666667	0.0011547
		1.114		
		1.116		
<i>Clitocybe</i>	1/10	0.597	1.115333333	0.00208167
<i>nebularis</i>		0.593		
		0.594		
1 T MAX	1/10	1.382	1.382	0
<i>Pleurotus</i>		1.382		
<i>ostreatus</i>		1.382		
1 T MIN	1/10	0.264	0.268666667	0.00416333
<i>Agaricus</i>		0.27		
<i>bisporus</i>		0.272		

ANEXO II



Figura 33. Comerciante de HSC, *Russula sanguinea*, *Cantharellus cibarius*, *Amanita rubescens*, entre otros.



Figura 34. Especies como *Amanita rubescens* son de las más apreciadas en el comercio, sin embargo otras como *Russula sanguinea* aunque en otras regiones de les considera como tóxicas, son también muy apreciadas en esta comunidad.



Figura 35. Otras especies también muy consumidas pertenecen a los géneros *Boletus* y *Clitocybe*, conocidos como semitas y señoritas.



Figura 36. Todas las especies fueron limpiadas para eliminar rastros de sustrato y sometidas a deshidratación en una cámara de secado.



Figura 37. El tiempo de secado dependió de la cantidad de agua que posee cada especie.



Figura 38. Posteriormente a la deshidratación se macero cada especie por separado con un mortero con pistilo.

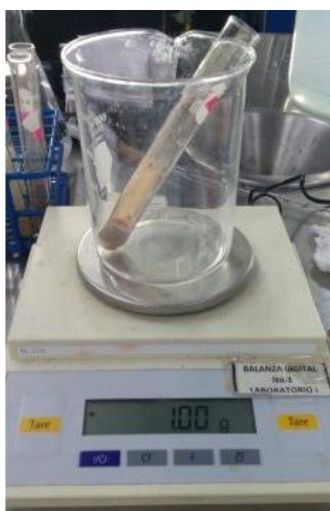


Figura 39. Se pesó sólo un gramo del macerado de cada especie.



Figura 40. Para la digestión alcohólica la cantidad de alcohol empleada dependió de lo fibroso que quedo el concentrado deshidratado.

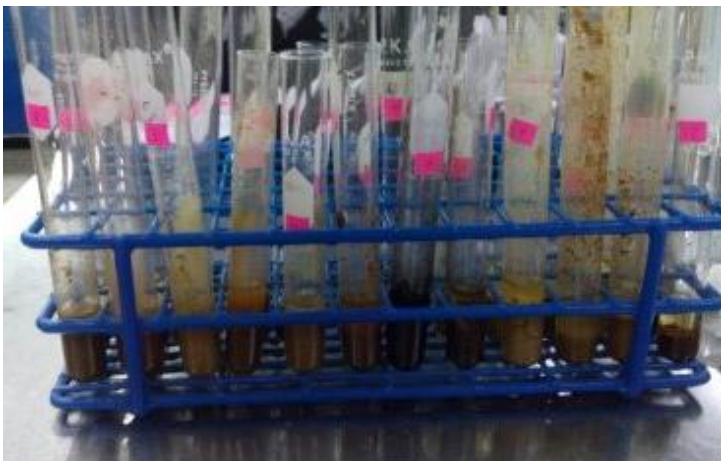


Figura 41. Posterior a la digestión alcohólica se adiciono éter etílico como última fase de separación de azúcares.

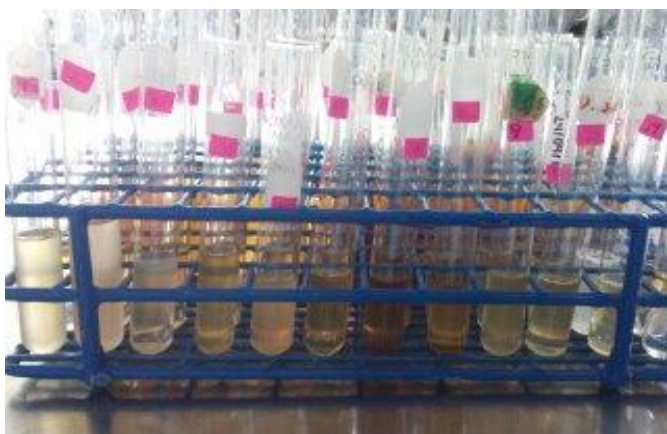


Figura 42. Para poder realizar la lectura en espectrofotómetro se realizó una disolución 1:10 con agua destilada.



Figura 43. La lectura se realizó a 450 nm por triplicado para cada especie.